Anno XIII - Nuova Serie N. 3

BOLLETTINO
DELLA R. STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE

Influenza del magnesio sull'accrescimento e sull'attività del " Saccharomyces cerevisiae „ Hansen

Il primo che si è occupato dell'argomento è stato il Mayer (1), egli è arrivato alla conclusione che il magnesio, almeno per i fermenti della birra, è più importante del calcio. Dal magnesio dipende l'assimilazione del fosforo.

Più tardi, Winogradsky (2), ha dimostrato che il magnesio è indispensabile per il *Mycoderma* e che questo metallo alcalino terroso non può essere sostituito nè dal calcio e nè dallo stronzio.

Kossowicz (3) studiando le colture dei fermenti in soluzioni contenenti magnesio, ha osservato per il primo che il magnesio influisce sulla pigmentazione dei fermenti, certi saccaromiceti, come *Saccharomyces cerevisiae* e *S. ellipsoideus,* diventano rossi per effetto del magnesio.

Come risulta da queste notizie, le ricerche fatte sull'influenza del magnesio nelle colture dei saccaromiceti sono pochissime, ho voluto perciò estendere le indagini in questo campo.

Lo scopo delle mie esperienze era di determinare la importanza del magnesio nei fenomeni di accrescimento e di respirazione dei fermenti alcoolici. Come condizione preliminare era evidente la necessità di studiare lo sviluppo macroscopico dei fermenti in relazione con le diverse concentrazioni di magnesio, ma più di tutto mi interessava di studiare i fenomeni di metabolismo delle colonie in esperimento; metabolismo che si può esplicare

sia con l'intensità dei fenomeni di ossido - riduzione, sia con la consumazione degli elementi zuccherini posti nel terreno nutritizio.

La demolizione degli zuccheri può dare luogo alla formazione di acidi e allo sviluppo di anidride carbonica. Ho appunto studiato in base a tali premesse in quale misura diminuissero gli zuccheri del substrato, in quale misura si formassero in esso gli acidi organici e in qual misura avesse luogo la fermentazione alcoolica.

Anche in queste ricerche, come in altre precedentemente pubblicate (4), ho potuto notare la grande resistenza con la quale il *Saccharomyces* sopporta dosi elevatissime di sale di magnesio ed ho eseguito una serie di saggi per stabilire i limiti di tale resistenza.

Quindi le mie ricerche concernono i seguenti argomenti:

1. — Accrescimento macroscopico dei fermenti.
2. — Fenomeni di ossido-riduzione.
   a) riduzione del bleu di metilene.
   b) riduzione del carminio d'indaco.
3. — Metabolismo dei composti ternari.
   a) demolizione dello zucchero.
   b) cambiamenti di acidità.
4. — Produzione di gas.
5. — Accrescimento in dosi limiti di magnesio.

Metodo. — Le colture sono state fatte in matracci contenenti 20 cmc. di soluzione nutritizia o in provette contenenti soltanto 5 cmc. La soluzione nutritizia base era quella di Leberle Will, però il peptone è stato sostituito da urea e al liquido di coltura ho aggiunto come sorgente di idrati di carbonio il glucosio o il saccarosio.

Soluzione nutritizia base:

Acqua	500	cmc.
Fosfato di calcio	0,250	grammi
Fosfato monopotassico	2,300	»
Solfato di magnesio.	1,050	»
Urea.	2,000	»
Glucosio	25,000	»

Tutte le colture sono state fatte con uno stipite di *Saccharomyces cerevisiae* avuto dalle Distillerie Italiane di Padova.

1. — Accrescimento del fermento.

Ho fatto parecchie esperienze in provette e specialmente in matracci per poter vedere bene anche macroscopicamente l'eventuale differenza di comportamento del fermento nelle soluzioni prive o contenenti varie quantità di solfato di magnesio.

Gli esperimenti fatti in matracci hanno dimostrato, 5 giorni dopo la semina:

senza magnesio: l'accrescimento è nullo; il liquido è rimasto completamente limpido come prima del trapianto del fermento.

liquido normale: liquido torbido, però non vi è alcun velo superficiale.

liquido contenente 2 Mg. (cioè quantità doppia di quella del normale): liquido più torbido che nel caso precedente e su tutta la superficie del liquido si forma un sottile velo.

10 giorni dopo il trapianto ho osservato:

Nel *senza magnesio* solo in un caso si è notato un accrescimento del fermento, ma anche qui era molto stentato. Al microscopio ho constatato la presenza di spore piccole sferiche, delle quali nessuna era in gemmazione.

Nel *liquido normale*: sul fondo del matraccio vi era un deposito denso e sulla superficie un velo sottile formato da un aggregato di cellule del fermento e di ife. Al microscopio ho visto poche cellule in gemmazione, la maggior parte delle cellule sferiche avevano un prolungamento lungo a forma di bastoncino. Molte erano anche le spore allungate e qua e là vi erano dei miceli.

Nel *2 Mg*: deposito abbondante sul fondo del matraccio, sulla superficie del liquido nutritizio vi era un den-

so velo, continuo ed aderente alle pareti del matraccio, anche ad occhio nudo si notava che l'accrescimento era molto più rigoglioso che nel liquido normale. L'esame microscopico mostrava sviluppo grandissimo della forma micelica, la maggior parte delle cellule isolate avevano una forma allungata.

Si può concludere da queste esperienze che in assenza di magnesio il *Saccharomyces cerevisiae* non cresce affatto, mentre piccole quantità di questo metallo alcalino terroso determinano e stimolano il suo sviluppo. Un'aggiunta di piccola quantità di magnesio favorisce la formazione del velo superficiale, cioè lo sviluppo dei fermenti aerobi.

È da notare che facendo alcuni esperimenti di controllo con soluzioni contenenti del glucosio, come fonte dei carboidrati, ho ottenuto anche nelle soluzioni nutritizie *senza magnesio* un discreto accrescimento del fermento. Probabilmente nel glucosio ottenuto da patate vi erano tracce di magnesio e bastavano queste per stimolare il fermento a moltiplicarsi fino ad esaurimento della fonte del magnesio.

2. — Fenomeni di ossido-riduzione.

a) Riduzione del bleu di metilene. — Per stabilire se il magnesio influisca sulla respirazione del *Saccharomyces* ho coltivato il fermento in tubi contenenti varie dosi di magnesio. Varii giorni dopo la semina ho aggiunto alle soluzioni alcune gocce di una soluzione del bleu di metilene, ho agitato la provetta in modo da distribuire la sostanza colorante ugualmente in tutto il liquido e poi ho osservato la rapidità della sua riduzione.

1.a esperienza : 6 giorni dopo la semina del fermento ho aggiunto ai liquidi il bleu di metilene. Già tre ore dopo l'introduzione della sostanza colorante è nettissimo il comportamento differente delle varie colture. Mentre il *senza magnesio* non è ridotto affatto, il normale è ridotto solo debolmente e il più ridotto di tutti è il *2 Mg.*

2.a esperienza: il bleu di metilene è introdotto nelle colture di 9 giorni. Il più ridotto di tutti è il *2 Mg*, solo debolissimamente ridotto è il *senza magnesio*.

3.a esperienza: introduzione di bleu di metilene nelle colture di 20 giorni: dopo solo due ore nel *2 Mg* è già completamente ridotto, mentre negli altri due la colorazione è ancora intensa; 5 ore dopo l'aggiunta della sostanza colorante anche la coltura normale presenta la riduzione, non presenta riduzione quasi affatto la coltura priva di magnesio.

Dalle esperienze sudescritte e da altre parallele si può dedurre che in assenza di magnesio, o, meglio, in presenza solo di piccole tracce di questo metallo (nel caso delle colture con soluzioni contenenti glucosio) il fermento respira molto debolmente, mentre in presenza di magnesio la respirazione è molto attiva. Inoltre, raddoppiando nelle soluzioni nutritizie la quantità di magnesio, cioè aggiungendo alla soluzione normale 0,21% di solfato di magnesio, la respirazione viene stimolata.

b) Riduzione del carminio d'indaco. — Le esperienze fatte con questa sostanza colorante hanno dimostrato che anche di fronte a questa le colture eseguite in soluzioni contenenti varie dosi di magnesio si comportano nello stesso modo come col bleu di metilene. Cioè in assenza di magnesio la respirazione è molto debole o nulla, mentre viene molto attivata in presenza di una doppia quantità di questo metallo.

La riduzione del carminio d'indaco avviene però in ritardo rispetto a quella del bleu di metilene. Mentre con quest'ultimo la riduzione si effettua già 2 ore dopo l'introduzione, per il carminio d'indaco occorrono almeno 12 ore.

3. — Metabolismo dei composti ternari.

a) Demolizione dello zucchero. — Ho coltivato il fermento in esperienza in soluzioni nutritizie prive o contenenti varie quantità di magnesio in presenza di

5% di saccarosio o glucosio, volendo stabilire se il magnesio influisce sulla facoltà del fermento di consumare più o meno zucchero.

Alla fine delle esperienze, varii giorni dopo il trapianto, ho saggiato col refrattometro la concentrazione zuccherina finale e ne ho dedotta la quantità dei carboidrati consumati da ogni coltura.

Se lo zucchero adoperato era saccarosio si poteva leggere direttamente sulla scala del refrattometro la sua concentrazione, nel caso del glucosio si è tenuto invece conto dell'indice di rifrazione.

1.a esperienza: coltura di 10 giorni:

senza magnesio	consumo	- 0
normale	»	- 1,5 % di saccarosio
2 Mg.	»	- 1,5 » »

2.a esperienza: coltura di 15 giorni:

senza magnesio	consumo	0
normale	»	2 % di saccarosio
2 Mg.	»	2 » »

3.a esperienza: coltura di 16 giorni:

senza magnesio	consumo	0
normale	»	1,8 % di saccarosio
2 Mg.	»	2 » »

4.a esperienza: coltura di 10 giorni in glucosio:

senza magnesio: l'indice di rifrazione non è cambiato affatto
normale: differenza di rifrazione = 0,0025
2 Mg.: » » = 0,003

5.a esperienza: coltura di 15 giorni in glucosio:

senza magnesio: differenza di rifrazione = 0,001
normale: » » = 0,004
2 Mg.: » » = 0,006

Dagli esempi qui citati si può dedurre che in assenza di magnesio si verifica uno scarsissimo consumo di zucchero; questo fatto può essere legato a qualche azione

specifica del magnesio sul metabolismo degli idrati di carbonio, ma è da tenere presente che l'organismo in assenza di Mg si trova così ostacolato nel suo sviluppo, come lo provano le osservazioni macroscopiche sopra riferite, che lo scarso consumo di zucchero può essere semplicemente attribuito a scarsità di plasma attivo.

b) Cambiamenti di acidità. — Le colture fatte in soluzioni contenenti varie dosi di magnesio sono state filtrate qualche giorno dopo il trapianto e l'acidità del liquido è stata titolata mediante idrato sodico N/10 e fenolftaleina come indicatore.

Coltura di 10 giorni :

senza magnesio	occorrono	6,4	cmc.	di idrato sodico	N/10
normale :	»	11,5	»	»	»
2 Mg. :	»	11,6	»	»	»

Coltura di 11 giorni :

senza magnesio	occorrono	6	cmc.	di idrato sodico	N/10
normale :	»	10	»	»	»
2 Mg. :	»	11	»	»	»

Coltura di 13 giorni :

senza magnesio	occorrono	7,6	cmc.	di idrato sodico	N/10
normale :	»	12,5	»	»	»
2 Mg. :	»	12,6	»	»	»

Si può concludere che in assenza di magnesio avviene un cambiamento nell'acidità del liquido nutritizio, ma questo cambiamento è molto minore che in presenza di quantità normale o doppia di magnesio. Tra queste ultime due condizioni colturali non vi è una netta differenza di comportamento rispetto all'aumento di acidità del mezzo.

Dato che il cambiamento dell'acidità del liquido nutritizio è indice dell'attività di accrescimento del fermento si può dedurre anche da queste esperienze quanto ho già esposto precedentemente e cioè che in assenza di magnesio l'attività del *Saccharomyces cerevisiae* è molto depressa.

4. — Produzione di gas.

Per misurare la quantità di gas prodotta dal *Saccharomyces cerevisiae* durante la sua attività fermentativa, mi sono servita di piccoli ureometri che hanno da un lato una larga ampolla e continuano dall'altro lato in un tubo chiuso graduato.

Negli ureometri previamente sterilizzati ho versato 10 cmc. delle soluzioni nutritizie contenenti varie dosi di magnesio. Ho trapiantato sulla superficie del liquido nell'ampolla due goccie di una sospensione del fermento in esame poi ho agitato il liquido in modo da distribuire il lievito ugualmente in tutta la soluzione contenuta anche in tutto il tubo graduato.

Quando il *Saccharomyces* cominciò a fermentare, il gas prodotto veniva accumulato nel cilindro graduato e potevo leggere direttamente la quantità di anidride carbonica formata.

Riporto i risultati delle letture eseguite nei tubi degli ureometri. Il segno (—) indica il tratto di campana che è al disopra della linea *0* corrispondente, cioè, a quantità trascurabile di gas. Il segno *0* e rispettivamente i numeri successivi indicano in cmc. la quantità di gas prodotta.

1.ª esperienza: trapianto 8-III: Alla mattina del quinto giorno dopo il trapianto, solo nel liquido normale è cominciata la produzione di gas. Otto ore più tardi apparivano le prime bollicine di gas anche nel 2 Mg che aveva un velo superficiale più denso del liquido precedente; nel « senza Mg » la produzione di gas è cominciata con due giorni di ritardo.

	normale	2 Mg.	senza Mg.
13 — III mattina	4 cmc.	—	—
14 »	13 »	0	—
15 »	60 »	7 cmc.	0
16 »	65 »	18 »	3 cmc.

2.ª *esperienza.* — Dopo 5 giorni dal trapianto comincia a fermentare il « normale », con un giorno di ritardo il « 2 Mg » e con 3 giorni di ritardo il « senza Mg ».

	normale	2 Mg.	senza Mg.
13 — III mattina	1 cmc.	—	—
14 »	4 »	0	—
15 »	36 »	20 cmc.	0
16 »	55 »	25 »	5 cmc.

3.ª *esperienza.* — Anche in questa serie, come in quella precedente, nelle ampolle contenenti 2 Mg si è formato un velo superficiale molto più denso che nei controlli contenenti la soluzione nutritizia normale e la fermentazione si è effettuata in ritardo. Il « senza magnesio » non aveva alcun velo superficiale, ha cominciato a fermentare in grande ritardo rispetto agli altri ed ha prodotto soltanto pochissimo gas.

	normale	2 Mg.	senza Mg.
16 — III mattina	0	—	—
17 »	2,5 cmc.	0	—
18 »	30 »	20 cmc.	—
19 »	49 »	30 »	1 cmc.

Dalle esperienze suesposte si rileva che i fermenti coltivati in liquidi normali producono gas più precocemente e abbondantemente degli altri.

In presenza di 2 Mg si forma un velo superficiale molto spesso e la fermentazione viene ritardata; questo dimostra che il magnesio favorisce lo sviluppo dei fermenti aerobici, la maggior parte delle colonie si formano sulla superficie libera del liquido e respirano normalmente.

In assenza di Mg la quantità di fermenti che si trovano nel liquido è molto piccola, non si forma alcun velo superficiale e la fermentazione avviene in ritardo ed è molto stentata.

Ho fatto un'altra serie di esperienze che consistevano nell'agitare gli ureometri vari giorni dopo il trapianto, in modo da rompere il velo superficiale e da distribuire i fermenti ugualmente in tutto il liquido, anche nel cilindro graduato. In questi casi ho ottenuto, come era prevedibile, una maggiore produzione di gas nel « 2 Mg ». dato che in questo liquido la moltiplicazione dei fermenti è molto attiva e la quantità degli organismi è maggiore che nei liquidi normali.

Questi dati si possono facilmente dedurre dalle tabelle seguenti :

1.ª esperienza. — Ho trapiantato i fermenti il 22-II ed ho agitato i liquidi dopo 10 giorni dal trapianto :

	normale	2 Mg.	senza Mg.
3 — III giorno	3 cmc.	4 cmc.	1 cmc.
4 »	8 »	11 »	5 »
5 »	10 »	19 »	7 »
6 »	11 »	32 »	8 »
7 »	15 »	50 »	13 »
8 »	23 »	55 »	14 »

2.ª esperienza. — Ho trapiantato i fermenti il 20-II ed ho agitato i liquidi dopo 11 giorni :

	normale	2 Mg.	senza Mg.
2 — III giorno	1 cmc.	2 cmc.	0
3 »	8 »	11 »	4 cmc.
4 »	12 »	18 »	10 »
5 »	19 »	28 »	12 »
6 »	35 »	60 »	14 »

5. — Accrescimento del " Saccharomyces cerevisiae „ in soluzioni con forti dosi di magnesio.

Ho coltivato questo fermento in matracci contenenti la soluzione base di Molisch con aggiunta di solfato di magnesio dall'1% fino al 40%.

5 giorni dopo il trapianto :

nella soluzione normale il liquido era torbido, ma non si era formato nessun velo superficiale;

nel Mg 1% il liquido era più torbido del precedente e sulla superficie vi era un sottile velo;

nel Mg 5% il velo superficiale era più denso e copriva completamente tutta la superficie del liquido;

nel Mg 10% si era formata una pellicola superficiale densissima, costituita da molte colonie grandi riunite tra di loro;

nel Mg 15% la coltura aveva lo stesso aspetto di quella precedente;

nel Mg 20%, 25%, 30% il velo superficiale diminuiva di spessore a mano a mano che aumentava la concentrazione di magnesio;

nel Mg 35% e 40% il velo superficiale era sottilissimo e quasi invisibile.

15 giorni dopo il trapianto:

nella soluzione normale alla base del matraccio si notava una patina densa aderente, sulla superficie un velo sottile, al microscopio si osservavano cellule in gemmazione; la maggior parte delle cellule avevano un prolungamento; abbondante era la forma micelica;

nel Mg 1% fino a 15% sulla base del matraccio vi era una patina aderente e sulla superficie del liquido un velo molto denso. Al microscopio si osservavano molte cellule in gemmazione, la forma micelica era molto meno abbondante che nelle colture normali, l'odore delle soluzioni era molto forte;

nel Mg da 20% a 40% i liquidi erano molto torbidi e il velo superficiale molto meno denso che nelle colture precedenti, la patina basale aderente era del tutto assente e l'odore delle colture era molto meno forte. Al microscopio si osservava una quantità grandissima di cellule quasi tutte di forma sferica; non si osservava affatto la forma micelica. Vi erano molte cellule sferiche, più grandi delle normali, a pareti molto ispessite e cellule che si potevano ritenere come forme di resistenza dimostranti un adattamento xerofitico.

Variazioni dell'indice di rifrazione prodotte dal fermento nelle soluzioni contenenti varie concentrazioni di solfato di magnesio.

Soluzione	Indice di rifrazione prima	Indice di rifrazione dopo	Differenze
normale . .	1,34	1,335	- 0,005
1 % Mg. .	1,341	1,336	- 0,005
5 » Mg..	1,346	1,343	- 0,003
10 » Mg. .	1,351	1,346	- 0,005
15 » Mg. .	1,356	1,353	- 0,003
20 » Mg. .	1,361	1,357	- 0,004
25 » Mg. .	1,364	1,361	- 0,003
30 » Mg. .	1,367	1,365	- 0,002
35 » Mg. .	1,371	1,369	- 0,002

Come si rileva dalla tabella suesposta tutte le colture fatte nelle soluzioni contenenti anche fortissime dosi di magnesio hanno consumato lo zucchero, quelle coltivate nelle concentrazioni molto forti lo hanno consumato un po' meno di quelle coltivate in soluzioni più deboli.

Si può concludere dalle esperienze fatte che il *Saccharomyces cerevisiae* cresce, si moltiplica ed è attivo anche nelle soluzioni contenenti fortissime concentrazioni di magnesio (40%), mostra però qualche segno di sofferenza e si difende formando delle cellule grandi, resistenti all'ambiente sfavorevole.

Ho voluto stabilire se le dosi forti di magnesio disturbano la respirazione normale dei fermenti; a tale scopo ho aggiunto alle colture qualche goccia di bleu di metilene, ho agitato le provette in modo da distribuire la sostanza colorante in tutto il liquido nutritizio. Ho osservato che poche ore dopo l'introduzione del bleu di metilene anche nelle soluzioni contenenti 35% o 40% di magnesio il liquido nutritizio è stato completamente ri-

dotto. Questo dimostra che anche nelle soluzioni molto concentrate di magnesio il fermento respira normalmente.

La forte pressione osmotica che raggiungono le soluzioni concentrate di magnesio, quasi 80 atmosfere, non disturbano affatto il normale accrescimento dei fermenti. Si sa che i Saccaromiceti vivono in soluzioni a pressioni osmotiche elevatissime.

Raciborsky (5) vide svilupparsi una *torula* non solo in soluzioni concentrate di saccarosio, ma anche in soluzioni sature di cloruro di litio, che raggiungono la maggiore pressione osmotica.

Vehmer (6) descrive un « fermento salino » ottenuto da una poltiglia di acciughe che vive in soluzioni contenenti il 24% di cloruro di sodio, cioè più di 100 atmosfere.

I lavori di Regnard e Melsens hanno dimostrato che i fermenti possono sopportare per un po' di tempo delle pressioni elevatissime. Regnard (7) ha potuto sottomettere i fermenti a una pressione di 1000 atmosfere (per un'ora) senza ucciderli. Melsens (8) è giunto fino a una pressione superiore a 8000 atmosfere e non ha constatato una diminuzione di vitalità dei fermenti sottoposti a quelle condizioni.

CONCLUSIONE.

Le ricerche fatte sull'influenza del magnesio sull'accrescimento del *Saccharomyces cerevisiae* hanno portato alle conclusioni seguenti:

In assenza completa di magnesio o in presenza di piccolissime quantità di questo metallo l'accrescimento è molto stentato, non si forma nessun velo superficiale, lo zucchero della soluzione nutritizia non viene affatto consumato, l'acidità del liquido è modificata solo di poco; il bleu di metilene è pochissimo ridotto e la fermentazione si compie con molto ritardo rispetto ai controlli e si arresta presto.

Un'aggiunta di piccola quantità di solfato di magnesio alla soluzione normale (0,21%) stimola l'accrescimento, si forma un velo superficiale più denso del controllo. Il magnesio favorisce lo sviluppo aerobico del fermento e quindi ostacola la fermentazione.

L'aggiunta della suddetta dose di magnesio stimola la respirazione e tanto il bleu di metilene quanto il carminio d'indaco vengono ridotti più rapidamente che i controlli.

Il *Saccharomyces* cresce bene anche in fortissime dosi di magnesio fino a 40% senza risentire alcun danno; in queste condizioni respira normalmente e consuma lo zucchero contenuto nella soluzione nutritizia.

D. Rabinovitz Sereni.

Orto Botanico della R. Università di Padova
Aprile 1933.

SUMMARY

The paper deals with a series of researches on the influence of magnesium on the growth of Saccharomyces cerevisiae and the results obtained are reported.

In complete absence of magnesium or in presence of very small quantity of this metal the growth is very poor, no superficial cover is formed, the sugar of the medium is not used and the acidity is slightly modified; methylene blue is very little reduced and the fermentation appears with a great delay in comparison with the controls and very soon ceases.

Adding a small quantity of magnesium sulphate (0,21%) to the normal solution; the growth is stimulated and a superficial cover thicker than in the control is formed. Magnesium helps the aerobic growth of the yeast and thus hinders the fermentation.

The addition of a small dose of magnesium stimulates also the respiration.

Saccharomyces cerevisiae grows well also in mediums with strong doses (not over 40%) of magnesium without suffering; in these conditions the respiration is normal and the sugar of the medium is used.

BIBLIOGRAFIA.

1. Mayer Ad., « Landw. Versuchstation », vol. 15, pag. 443, 1869.

2. Winogradsky S., *Ueber die Wirkung äusserer Einflüsse auf die Entwicklung von* Mycoderma vini. Rec. in « Bôt. Centbl. » vol. XX, pp. 165-167, 1884.

3. Kossowicz A., *Untersuchungen ueber das Verhalten der Hefe in mineralischen Nährlösungen.* « Zscrh. Landw. Versuchwesen Oesterreich », vol. VI, pp. 27-59, 1903.

4. Rabinovitz-Sereni D., *Influenza del magnesio sullo sviluppo di alcuni funghi.* « Boll. d. R. Staz. di Patologia Vegetale », pp. 203-226, 1933.

5. Raciborsky A., *Ueber die obere Grenze des Osmotischen Druckes der lebenden Zelle.* « Bull. Ac. Sc. », Cracovia, pp. 461-471, 1905.

6. Wehmer C., *Zur Bakteriologie und Chemie d. Häringslake.* « Centbl. f. Bakter. », vol. III, pp. 209-222, 1897.

7. Regnard P., *Recherches expérimentales sur l'influence des très hautes pressions sur les organismes vivants.* « C. R. Ac. d. Sc. », Paris, vol. XCVIII, pp. 745-747, 1884.

8. Melsens, « C. R. Ac. d. Sc. », Paris, vol. LXX, 1870.

Azione della polvere di calciocianamide sulla vegetazione

La benefica azione della calciocianamide come concime è ormai troppo nota per spendere parole a spiegarla, ed è inoltre noto il suo energico potere fungicida e specialmente battericida (1-4). L' impiego quindi della calciocianamide come concime ha il doppio effetto di favorire lo sviluppo delle piante concimate per l'apporto di azoto e, indirettamente, per la sterilizzazione parziale del terreno che provoca attraversando, sciolta nell'acqua, lo strato agrario del terreno.

È ugualmente però nota un'azione tossica di essa sulle parti aeree e sotterranee delle piante agrarie quando venga con esse a contatto in proporzioni troppo elevate, per i prodotti di scomposizione che si originano e tra i quali ve ne è alcuno veramente tossico e fortemente dannoso se abbondante. Donde la pratica di somministrare la calciocianamide mescolata con adeguata quantità di terra fine.

Le ricerche qui esposte sono state determinate da un doppio ordine di fatti: 1) verificare se il recentissimo impiego della calciocianamide, mescolata a caolino, come

(1) Perotti R., *Se la scomposizione della calciocianamide possa avvenire per mezzo dei batteri.* « Arch. di Farm. sper. e Sc. affini », V, Siena 1906.

(2) Petri L., *Azione tossica della calciocianamide sulla « Blepharospora cambivora » e la « Pythiacystis cytrophthora ».* « Bollettino della R. Stazione di Pat. veg. », N. S., VI, pag. 135-138, Firenze 1926.

(3) Peyronel B, *La sterilizzazione del terreno e la flora radicicola normale del frumento.* « Bollettino della R. Stazione di Pat. veg. », N. S., VI, pagg. 348-358, Firenze 1926.

(4) Peyronel B., *Ricerche sull'azione anticrittogamica dei concimi chimici.* « Bollet. della R. Stazione di Pat. veg. », N. S., VI, pagg. 138-144, Firenze 1926.

anticrittogamico nella lotta diretta contro le ruggini dei cereali (1) non desse luogo ad azioni caustiche sul grano. La quantità di calciocianamide attualmente provata non è certamente dannosa perchè rappresenta l'1% in una mescolanza con caolino, ma non è da escludere che in questo o in altri casi la proporzione di anticrittogamico debba essere aumentata, donde la necessità di ricerche adeguate; 2) stabilire se la polvere di calciocianamide che sfugge, nelle fabbriche, dai camini durante la macinazione e quindi è dispersa dal vento e depositata sulle colture agrarie vicine, possa recare o meno danni alle piante. Specialmente sotto questo riguardo l'argomento presenta un certo interesse sia per lo sviluppo che oggi ha preso l'industria di questo concime e che può dar luogo a controversie tra industriali ed agricoltori, sia pel fatto che nei trattati di Patologia vegetale che descrivono danni causati alla vegetazione da prodotti secondari che sfuggono dagli stabilimenti industriali, non è trattato il capitolo riguardante la calciocianamide.

*
* *

Gli esperimenti eseguiti per la ricerca degli effetti della calciocianamide sulle parti verdi delle piante sono stati necessariamente limitati a poche specie vegetali, ma fatti in doppia serie: una prima, come esperienza di laboratorio, riguardava l'azione su poche piante in vaso trattate in modo diverso; una seconda in aperta campagna interessava molti individui ed aveva per iscopo di creare condizioni quanto più possibili uguali a quelle delle zone prossime a fabbriche di calciocianamide. La prima serie di prove fu eseguita impiegando vasi con piantine di

(1) Gassner G. und Straib W., *Beitrag zur Frage der Getreiderostbekämpfung auf chemischem Wege.* « Phytopathologische Zeitschrift », II, 4, pagg. 361-376, 1930.

fagiolo, pomidori e peperoni e furono fatti diversi gruppi trattati con polvere di calciocianamide come segue:

a) piante polverizzate sulla sola pagina superiore delle foglie;

b) piante polverizzate sulla sola pagina inferiore delle foglie;

c) piante spruzzate con acqua (mediante pompa a getto polverizzato) ed in seguito trattate con polvere di calciocianamide;

d) piante spruzzate con acqua senza altro trattamento;

e) piante di controllo senza spruzzamento di acqua nè polverizzazione.

La quantità di calciocianamide impiegata nelle diverse polverizzazioni (eseguite due volte sole per ogni gruppo) non sono state dosate, ma erano tali da costituire sulle foglie un velo sottilissimo di polvere.

Tutti e cinque i gruppi di piante in esperimento furono, dopo il trattamento, lasciate all'aperto sulla terrazza del Laboratorio, convenientemente esposte e convenientemente innaffiate. Dopo tre o quattro giorni dal secondo trattamento su alcune piante si potevano già osservare evidenti traccie di danni rappresentate da lievi zone di disseccamento sia all'apice delle foglie sia, meno abbondanti al margine del lembo, e ciò in tutte e tre le specie in esperimento. Dopo otto giorni queste alterazioni si erano ancora aggravate e in molti casi si era giunti al disseccamento e all'arrotolamento delle foglie o al ripiegamento dell'apice.

Tuttavia da queste esperienze in laboratorio è risultato che la gravità dei danni non era uguale per tutti i gruppi, ma era massima in quelle piante che erano state polverizzate con calciocianamide dopo spruzzamento con acqua e più lieve in quelle che avevano subìto l'irrorazione; così che la scala dei danneggiamenti dei cinque gruppi è stata la seguente (vedi fig. 1):

1.°) piante polverizzate dopo spruzzamento con acqua:

Fig. 1.

Piante di pomodoro nell'esperienza di Laboratorio: 1, controllo; 2, pianta polverizzata sulla pagina inferiore delle foglie; 3, pianta polverizzata sulla pagina superiore; 4, pianta polverizzata dopo spruzzamento con acqua (dieci giorni dopo il 2.° trattamento).

danni massimi per la morte, oltre che delle foglie adulte e giovani, anche dell'apice vegetativo;

2.°) piante polverizzate sulla pagina superiore delle foglie: danni assai meno gravi del primo gruppo e cioè gravi ustioni delle foglie presenti sia giovani che adulte senza però particolare alterazione dell'apice vegetativo che rimaneva vitale e dopo qualche tempo emetteva nuove foglioline;

3.°) piante polverizzate sulla pagina inferiore: danni leggermente inferiori ai precedenti: ustioni alle foglie presenti; apice intatto;

4.°) piante spruzzate con acqua e piante senza alcun trattamento: nessun danno.

Gli esperimenti in campo sono stati fatti al Campo sperimentale della R. Stazione su fagioli nani, pomodori e grano delle varietà *Saragolla* e *Inallettabile 96;* la somministrazione di calciocianamide è stata fatta sulle foglie in quantità estremamente piccole con polverizzazioni però ripetute giornalmente per modo che si è venuto a costituire sulle piante uno straterello tenuissimo di calciocianamide perfettamente paragonabile a quello osservato sulle stesse piante nelle località più prossime a fabbriche di tale prodotto. Le polverizzazioni sono durate circa 50 giorni. Osservazioni e prelevamenti periodici di materiale hanno permesso di rilevare che le polverizzazioni, nelle condizioni in cui sono state effettuate, non hanno affatto nociuto alle colture delle due varietà di grano che anzi presentavano le foglie meglio sviluppate e di un colore verde più intenso, come se il trattamento avesse provocato un senso di benessere. Ben altrimenti sono andate le cose per i fagioli e per i pomodori. Le piante di fagioli della parcella trattata si presentavano al confronto con quelle della parcella non trattata di un verde molto più cupo (indipendentemente dallo straterello nero di calciocianamide), più rigogliose con le singole foglioline molto più spesse e più increspate. Sezioni microscopiche effettuate in foglie coetanee trattate e

non trattate hanno spiegato i reperti macroscopici; è risultato infatti, per le due porzioni di foglia, prese nella stessa posizione, uno spessore di circa 100 μ superiore in quelle trattate (foglia controllo media spessore di dieci

Fig. 2. — Porzione della parcella di fagioli nani trattata con calciocianamide dopo 60 giorni (a sinistra), porzione del controllo (a destra).

misurazioni μ 183, foglia trattata media spessore μ 287) differenza che si è suddivisa tra palizzata e lacunoso nelle proporzioni di circa il 75% nel palizzata e il 25% nel lacunoso.

Altre modificazioni morfologiche presenti nelle foglie trattate sono il grande sviluppo del clorenchima lacunoso nel quale le cellule aumentavano di numero e di dimensioni; di questo tessuto la prima fila di cellule immediatamente sottostante al palizzata è quella che si orienta in modo regolare con l'asse maggiore normale all'epidermide e costituisce la seconda serie di palizzata. Le guaine collenchimatiche dei fasci assumono un maggiore sviluppo e risaltano quindi di più sulla superficie infeferiore della lamina. I cloroplasti risultano in numero maggiore, non perchè siano più stipati nelle cellule, ma perchè queste sono più grandi e più numerose; di conseguenza anche la quantità di amido è, nello stadio giovanile della foglia, leggermente più abbondante (ciò a

parità di età, esposizione, e raccolta). Variazioni non apprezzabili, e quindi presumibilmente rientranti nelle normali oscillazioni, sono state notate per gli stomi e i peli, sia semplici che ghiandolari, e per la cuticola. Noto che mai negli stomi e nelle camere stomatiche ho trovato traccie di polvere di calciocianamide. In seguito, ancor prima che le foglie diventino adulte tanto l'apice quanto i margini del lembo ingialliscono e seccano, mentre le rugosità del parenchima internervale, rigonfiate verso la pagina superiore, diventano dapprima clorotiche e a poco a poco imbruniscono per la necrosi del parenchima, per modo che la foglia adulta, che nelle piante normali seguita a funzionare ancora per lungo tempo, nelle piante trattate limita presto la sua attività e muore molto prima.

Gravi danneggiamenti sono rilevabili sui fiori raggiunti dalla calciocianamide, poichè i delicati tessuti del perianzio, degli stami e del pistillo subiscono alterazioni profonde che si risolvono in perdita di prodotto calcolata a circa tre quarti di quello delle piante controllo.

Ancora più sensibile alle polverizzazioni con calciocianamide è risultato il pomidoro sul quale il trattamento fu iniziato pochi giorni dopo il trapianto e proseguito per 50 giorni come pel fagiolo. Le varietà impiegate per l'esperimento sono state due: una a foglie poco frastagliate e frutti a pera, l'altra a foglie molto frastagliate e a frutto con costole molto marcate. L'aspetto delle piante trattate risultò in questo caso peggiore di quelle non trattate per il grave accartocciamento che aveva subito specie la varietà a foglie poco frastagliate in confronto col controllo e pel disseccamento marginale e apicale delle foglie delle due varietà più marcato che sul fagiolo. Gli apici vegetativi sono poi risultati nel pomodoro molto più sensibili che nel fagiolo, il che ha avuto per conseguenza la produzione di piante meno sviluppate che nel controllo e fornite di un numero molto inferiore di fiori e di frutti. Anche in questo caso le foglie mostra-

Fig 3. — A sinistra foglia giovane di fagiolo dopo 50 giorni di trattamento: si notano gli apici e un lieve margine del lembo disseccati e in parte lacerati e la lamina rugosa con zone clorotiche; a destra foglie coetanee di controllo.

vano al tatto uno spessore maggiore del controllo, ma, per la natura stessa della foglia di pomodoro, l'increspatura del parenchima internervale non era così evidente come nel fagiolo. L'esame microscopico delle foglie ha permesso di stabilire che l'aumento di spessore della foglia, è anche in questo caso notevole; infatti contro uno spessore di circa μ 272 della foglia controllo, si hanno μ 353 nella foglia trattata con una differenza di circa μ 80-81. Nel pomodoro l'aumento di spessore è dato da solo aumento di dimensioni delle cellule, e contrariamente a quanto fu osservato sul fagiolo il tessuto a palizzata subisce una minore ipertrofia mentre si ha ipertrofia ed iperplasia nel parenchima lacunoso. La differenza in più infatti è suddivisa in ragione del 27,2% nel palizzata e del 72,8% nello spugnoso. Non risultano differenze nè nello spessore della cuticola, nè nell'apparato pilifero e negli stomi.

Pur non essendosi completata, all'epoca in cui scrivo queste note, la fruttificazione delle piante di pomodoro, dal numero dei frutticini già allegati e dei fiori ancora sani ho potuto stabilire che gli effetti dannosi della calciocianamide si sono fatti sentire molto più intensamente qui che nel fagiolo, poichè la diminuzione di prodotto in pomidori, come numero, è risultata nella parcella trattata dalla metà ad un terzo inferiore di quella del controllo.

*
* *

Le alterazioni causate sulle due piante ortensi esperimentate dalla somministrazione prolungata e giornaliera di piccole quantità di calciocianamide sulle parti aeree delle piante, vanno ascritte, per quanto ho sopra riferito, a quel gruppo di disturbi anatomici che sono compresi sotto il nome di *parenchimatosi* inteso questo

Fig. 4. — Come alla fig. 3, ma foglie adulte (impiccolite).

termine nel senso datogli da Sorauer (1-2). Si tratta anche qui di anormale aumento (numerico e di dimensione) dei tessuti parenchimatici appartenenti però alla foglia

Fig. 5. — Sezione di foglia di fagiolo adulta dopo il trattamento: è visibile la formazione di un secondo strato di parenchima a palizzata e il grande sviluppo del parenchima lacunoso. $\left(\text{Ingr.}\frac{95}{1}\right)$.

invece che a frutti o rami (Sorauer). Anche in questo caso riesce difficile stabilire quando la parenchimatosi finisce di essere uno stato di esuberanza e di rigoglio vegetativo per diventare una manifestazione patologica, vale a dire fino a quando si deve considerare un bene e quando deve ritenersi una malattia.

(1) Sorauer P., *Nachweis der Verweichlichung unserer Obstbäume durch die Kultur.* « Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten », II, pagg. 66–70 e 142-148, 1892.

(2) Id., *Handbuch der Pflanzenkrankheiten.* Ester Band, V Ediz., pagg. 367–368. Berlin 1924.

Ritengo quindi che l'azione della calciocianamide sulle parti aeree delle piante vada considerata in due periodi ben diversi. In un primo momento tale azione è benefica in quanto determina un maggior rigoglio vegetativo e quindi maggiore sviluppo istologico, produzione di maggior numero di cloroplasti, color verde intenso ecc. (1). Tale beneficio è forse dovuto ad un'azione oligodinamica della calciocianamide, probabilmente paragonabile alla analoga azione del rame somministrato a mezzo della poltiglia bordolese, e si verifica fino a quando le quantità di polvere non raggiungono la dose tossica per causticità. Il periodo di benessere, vale a dire la dose utile di calciocianamide è certamente diversa per le varie piante, come è stato potuto osservare anche sperimentalmente nelle poche specie sottoposte a prove e varia oltre che per la resistenza specifica della pianta, per l'andamento climatico della stagione ecc. Infatti il grano è risultato favorito nella sua vegetazione dalla polverizzazione con calciocianamide e non ha mostrato nemmeno l'inizio di sofferenza, alle condizioni dell'esperienza; a questa specie va aggiunto il cavolo e il broccolo che nelle condizioni naturali, in vicinanza di una fabbrica, non hanno mostrato sintomi sicuri di malessere.

In un secondo momento la somministrazione prolungata di calciocianamide esercita certamente azione dannosa dovuta sia alla causticità naturale del prodotto (pH oltre 10) sia alla decomposizione che, seppure lentamente, subisce all'aria con formazione di composti più semplici, ma non meno dannosi alla vegetazione per contatto diretto. È noto infatti che la calciocianamide si scompone all'aria in diciandiamide, questa in carbammide od urea e questa in ammoniaca; l'ammoniaca così formata però non è pura ma contiene il 0,8% di polvere

(1) Sono in corso esperienze per stabilire quale influenza abbia, sulla vita della pianta, la polvere di calciocianamide caduta sul terreno e se parte del rigoglio vegetativo debba imputarsi al potere concimante del prodotto.

di carburo di calcio. È certamente in gran parte imputabile a queste sostanze, che in piccole quantità si formano, il danno che subiscono i tessuti verdi delle piante.

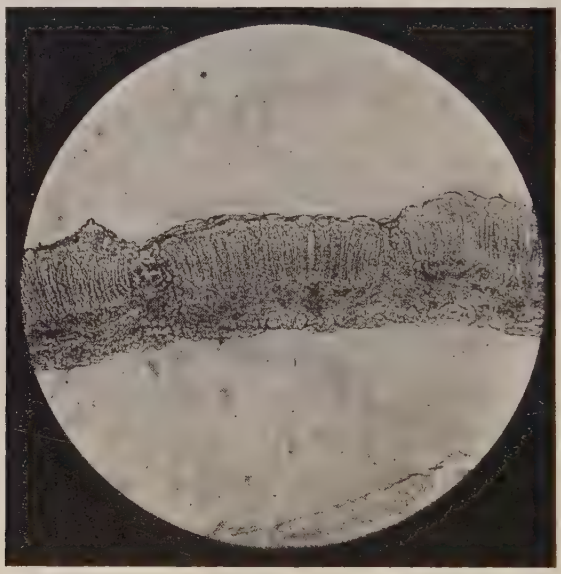


Fig. 6. — Sezione di foglia di fagiolo adulta di controllo: stessa età, medesima posizione e uguale ingrandimento di quella della figura precedente.

Il fenomeno stesso della parenchimatosi è di per sè una alterazione in quanto è una deviazione del normale sviluppo dell'organo, ma esso facilita ancora il verificarsi di ulteriori danni per l'assottigliamento che subiscono le pareti delle cellule; accade quindi che i prodotti caustici (calciocianamide e suoi prodotti di scomposizione) in parte assorbiti attraverso la cuticola e gli stomi attaccano l'epidermide e il tessuto a palizzata provocando, nello stadio iniziale, semplice clorosi come si verifica nella parte più saliente delle aree internervali (fagiolo) più sporgenti, all'apice e sui margini delle foglie (fagiolo e pomodoro). In seguito le cellule clorotiche muoiono e seccano producendo la zona ustionata continua al mar-

gine delle foglie e le macchie della lamina che vanno sempre più ingrandendo fino a confluire. Quando alcune macchie si sono riunite il destino della foglia è segnato ed in breve muore interamente. È ovvio che questo processo è tanto più accelerato quanto più forte è stata la somministrazione di calciocianamide e quanto più gli agenti atmosferici (rugiade) hanno favorito l'azione dei prodotti caustici sulla pianta.

Se queste sono le conseguenze sulle foglie, è facile immaginare che effetti ancora più disastrosi si verifichino sugli apici vegetativi e sui fiori formati da tessuti molto più delicati e più suscettibili. Nel fagiolo nano, in cui i fiori sono in gran parte al riparo dalle grosse e larghe foglie e quindi difficilmente raggiungibili dalla polvere, la produzione dei frutti è poco inferiore alla normale e causata più che altro dal cattivo funzionamento delle foglie; nel pomodoro invece i fiori sono, nonostante l'apparato tricomatoso, più facilmente offesi dalla calciocianamide e si ha riduzione ancora maggiore di prodotto per l'ustione diretta dei fiori e i danni indiretti dell'apparato fogliare.

Danni analoghi e forse maggiori, per il sommarsi degli effetti, subisce la vegetazione arborea per la quale, se vi sono constatazioni dirette in condizioni naturali, non ho per ora istituito esperimenti. CESARE SIBILIA.

SUMMARY.

For 50 days very small quantities of calciumcyanamide have been daily dusted on beans, peppers, tomatoes and corn, grown in pots and in field, to establish the injuries caused by this fertilizer on the leaves. Corn did not show any damage; bean leaves showed parenchymatosis and the appearance of a second layer of palisade cells; tomatoes showed hypertrophy and leaf rolling; the leaves of both the species later underwent burnings and dried up. Not protected flowers were severely injured. Wet plants suffered more severely.

Sull'accrescimento di alcune tallofite in soluzioni contenenti fortissime dosi di magnesio

Le ricerche recentemente da me fatte sullo sviluppo del *Penicillium glaucum* e del *Saccharomyces cerevisiae* in presenza di forti dosi di magnesio [1, 2], hanno messo in evidenza una straordinaria capacità di questi organismi a sopportarne dosi assai elevate nei terreni nutritizî.

D'altra parte è notoria la grande sensibilità che molte specie presentano a dosi appena un po' alte di magnesio; ho cercato quindi di studiare meglio la questione estendendo le mie esperienze ad altre specie di tallofite.

Solo nel 1892 le nozioni sulla tossicità del magnesio hanno acquistato valore dopo i lavori del Loew [3] sopra l'importanza fisiologica del calcio per le piante. Secondo l'Autore il magnesio è tossico perchè può sostituire il calcio nelle proteine del nucleo.

Secondo Canals [4] l'azione tossica del magnesio sulle piantine di fagiolo, pisello, granturco, etc. si manifesta nettamente già alla concentrazione di 1 :1000.

Lo stesso Autore ha studiato anche l'importanza del magnesio per l'*Aspergillus niger* ed ha notato che il fungo ne risente l'azione tossica alla concentrazione di 1 : 1000, ha concluso, perciò, che il magnesio agisce in modo analogo sulle piante superiori ed inferiori.

Secondo Canals al di là di 5 :1000 di $MgSO_4$, la soluzione diventa tossica per gli organismi del Kephir : *Saccharomyces kephir* e *Bacillus caucasicus*.

Loew [5] ha constatato che i filamenti della *Spirogyra* muoiono subito se immersi in soluzioni di solfato di magnesio all'1,82% ; la *Spirogyra arcta* Ktzg. muore già dopo 24 ore, l'azione è dovuta però alla forte pressione osmotica del liquido.

Kober [6] ha trovato che l'*Actinomyces oligocarbophilus* sopporta bene anche forti concentrazioni di magne-

sio; egli lo ha coltivato in soluzioni contenenti fino a 25% di $MgSO_4$ ed ha notato che con l'aumento della concentrazione aumenta il diametro delle colonie, con un *maximum* alla concentrazione di 15%.

Gunther [7] ha constatato che il *Rhizopus nigricans* può sopportare forti concentrazioni di magnesio, con un limite al 15% di solfato di magnesio; il nitrato di magnesio è più velenoso, in questo il fungo non cresce già alla concentrazione del 5%.

Richter [8] ha fatto delle osservazioni sorprendenti sopra il contenuto assai elevato, fino al 20% di solfato di magnesio, che qualche alga, come la *Chlorella*, può sopportare crescendo ancora bene.

Come risulta dai lavori citati, mentre tutti gli Autori sono concordi nell'ammettere che il Mg nelle concentrazioni superiori all'1% è tossico per le piante superiori, le constatazioni fatte sul comportamento di alcune crittogame di fronte a dosi forti di magnesio sono discordi.

Ho voluto anche per questa ragione estendere le mie ricerche su parecchi organismi appartenenti ai varî gruppi delle crittogame. Le mie ricerche sono state svolte intorno a:

Eumiceti:

Botrytis cinerea Pers.
Alternaria tenuis Nees.
Fusarium sp.
Coniosporium bambusae Sacc.
Rhizoctonia Solani Kuhn.
Torula pulcherrima Lindner.
Mycoderma Aconiti Marcello.

Schizomiceti:

Bacillus prodigiosus Ehrnbg.
Bacillus subtilis F. Cohn.
Sarcina aurantiaca Flügge.

Cianoficee :

Gloeocapsa.
Nostoc.
Oscillaria.

Cloroficee :

Chlorella vulgaris Beyerinck.

Metodo. — Tutte le colture sono state coltivate in matracci contenenti 20 cc. della soluzione nutritizia Molisch con l'aggiunta di 2% di glucosio e la quantità calcolata di solfato di magnesio, fino al massimo di 40% di questo.

I matracci sono stati tenuti nel termostato alla temperatura di 20° C.

Botrytis cinerea Pers. — Le colture hanno dimostrato 6 giorni dopo il trapianto che l'ifomicete in esame era cresciuto in tutte le soluzioni provate, anche in quella contenente 40% di solfato di magnesio.

Mentre nelle soluzioni contenenti dall'1% fino a 20% del sale in esame l'accrescimento era molto rigoglioso, i conidiofori alti e la sporificazione abbondante, nelle soluzioni più concentrate l'accrescimento era un po' più stentato e la sporificazione avveniva in ritardo rispetto alle colture precedenti. L'impedimento era forse dovuto alla forte concentrazione molecolare dei liquidi, la pressione osmotica nel liquido contenente 40% di $MgSO_4$ arrivando a quasi 80 atmosfere.

Si può concludere che il magnesio, anche se dato in dosi molto forti, non esercita nessuna azione tossica sulla *Botrytis cinerea.*

Alternaria tenuis Nees. — Sei giorni dopo il trapianto del fungo nelle soluzioni contenenti varie dosi di magnesio ho potuto constatare che in tutte le soluzioni contenenti dall'1 fino al 25% di solfato di magnesio lo accrescimento era molto rigoglioso, le colture avevano coperto quasi tutta la superficie dei rispettivi liquidi e

presentavano una colorazione verde scura data da una abbondante sporificazione. Nelle soluzioni contenenti dal 25% fino al 40% di magnesio l'accrescimento era un po' più stentato, la coperta micelica più sottile e le spore si formavano con ritardo; probabilmente anche qui le colture hanno sofferto della forte pressione osmotica dei liquidi nutritizî. Il magnesio in sè non è affatto nocivo per l'*Alternaria tenuis*.

Fusarium sp. — Il *Fusarium* che ha servito per questi esperimenti è stato isolato da fagioli rigonfiati in acqua e messi a germinare.

4 giorni dopo il trapianto, le colture su terreni liquidi contenenti dall'1% fino al 10% di $MgSO_4$ erano formate da un denso velo di batteri; al miscroscopio si sono viste tra l'ammasso dei batteri anche alcune ife miceliche del *Fusarium*.

Nel matraccio contenente 10% di $MgSO_4$ i batteri erano pochissimi mentre il micelio vegetativo del fungo era molto sviluppato e vi era anche qualche spora.

Sul terreno al 15% di sale di magnesio, il micelio era molto rigoglioso con abbondanti ramificazioni; il numero dei conidi era più grande che nella coltura precedente.

Nella coltura col 20% di $MgSO_4$ ed in quella col 25% la quantità di spore era più abbondante che nelle colture precedenti.

Nel terreno al 30% pochissime erano le ife miceliche, tutta la massa era formata da un insieme di numerosissime spore.

Con 35% e 40% di $MgSO_4$ la quantità di spore era grandissima, solo qua e là si vedeva ancora qualche ifa. È chiaro che in queste ultime soluzioni, a pressione osmotica molto forte, il fungo mostrava segni di sofferenza e si difendeva passando completamente alla fase riproduttiva.

Si può concludere da questi esperimenti che il magnesio non è tossico per il *Fusarium*.

Si nota inoltre che anche il batterio che ha accompagnato il *Fusarium* è capace di vivere in forti concentrazioni di magnesio, fino alle soluzioni contenenti il 10% di magnesio il batterio ha avuto il sopravvento sul fungo, di cui ha impedito quasi completamente l'accrescimento, mentre nelle concentrazioni più forti ha avuto il sopravvento il *Fusarium*.

Coniosporium bambusae Sacc. — Il fungo è stato preso da una canna trovata in serra.

Due giorni dopo il trapianto della sospensione delle spore in tutti i liquidi nutritizî, anche in quello contenente 40% di solfato di magnesio, le spore hanno germinato e sulla superficie dei liquidi si sono formate minuscole coloniette.

Sei giorni dopo la semina tutta la superficie dei liquidi nutritizî era coperta da un micelio bianco e da abbondante sporificazione.

Il *Coniosporium* in esame non soffre dunque affatto dalle dosi forti di magnesio.

Rhizoctonia Solani Kuhn. — Pezzi di ife vegetative sono stati trapiantati nei matracci contenenti varie dosi di magnesio.

Una settimana dopo il trapianto, in tutti i matracci, anche in quello contenente 40% di solfato di magnesio, il micelio sterile della *Rhizoctonia* si era molto sviluppato.

Torula pulcherrima Lindner. — 6 giorni dopo il trapianto della sospensione di questo fermento, tutti i matracci avevano i liquidi nutritizî fortemente colorati, al microscopio ho notato che la *Torula* era cresciuta e si era moltiplicata molto attivamente in tutte le soluzioni nutritizie, anche in quella contenente la quantità massima di solfato di magnesio. Il fermento non ha sofferto nemmeno dalla forte pressione osmotica dei liquidi.

Mycoderma Aconiti Marcello. — 5 giorni dopo il trapianto di questo fermento, tutte le sostanze nutritizie hanno aspetto torbido e odore caratteristico molto forte.

Al microscopio si osserva che le cellule sono in grande attività di moltiplicazione; quasi tutte sono gemmanti.

Si può concludere che anche per il *Mycoderma Aconiti* il magnesio non è affatto tossico.

Bacillus prodigiosus Ehrnbg. — 5 giorni dopo il trapianto nelle varie soluzioni di magnesio si notava già la rapida moltiplicazione del batterio che era facile a constatare dal colore rosa dei liquidi.

Infatti fino alle soluzioni nutritizie contenenti 20% di magnesio il colore dei liquidi era rosa carico, in quelle seguenti il colore dei liquidi era rosa più pallido, però al microscopio si è potuto accertare che il batterio era molto attivo.

Bacillus subtilis F. Cohn. — Una settimana dopo il trapianto del bacillo nelle varie soluzioni di $MgSO_4$ si nota che la moltiplicazione è avvenuta in tutti i matracci, anche in quello contenente la soluzione nutritizia satura di magnesio, tutti i liquidi hanno l'odore caratteristico, e in molti i bacilli si riuniscono a formare degli ammassi e anche delle membrane superficiali continue.

Sarcina aurantiaca Flügge. — Ho avuto questa coltura come le due precedenti dall'Istituto di Igiene della R. Università di Padova.

Una settimana dopo il trapianto della *Sarcina* tutti i matracci contenevano dei liquidi torbidi, di colore giallino arancione e di odore molto caratteristico. Al microscopio si nota che la *Sarcina* si è molto moltiplicata anche nelle soluzioni contenenti la massima quantità di solfato di magnesio.

Cianoficee. — Ho preso da un muro umido di una vasca dell'Orto un ammasso di alghe bleu, costituito da *Nostoc*, *Oscillaria* e *Glococapsa*, e l'ho trapiantato in matracci contenenti varie dosi di magnesio fino al 25%.

15 giorni dopo il trapianto, i liquidi nutritizî erano infetti da *Fusarium* e da batteri; però le alghe bleu ivi contenute non avevano perduto affatto la loro vitalità.

Ho ripetuto gli esperimenti, coltivando tali organismi invece che in matracci chiusi contenenti la soluzione Molisch, in bacinelle aperte contenenti acqua di fonte con le varie soluzioni di solfato di magnesio.

10 giorni dopo il trapianto ho notato che i *Nostoc,* la *Oscillaria* e le *Gloeocapse* non avevano risentito affatto l'azione nociva del magnesio e si comportavano nelle soluzioni contenenti forti dosi di magnesio come i controlli tenuti in acqua di fonte.

Cloroficee — Chlorella vulgaris Beyerinck. — 15 giorni dopo il trapianto dell'alga nelle soluzioni di $MgSO_4$ i liquidi, fino a quello contenente 20% di questo, erano debolmente colorati in verde.

Un mese dopo il trapianto il sedimento formato dalle cellule verdi sulla base dei matracci era molto abbondante. Nel liquido contenente 20% di solfato di magnesio l'alga cresce come nelle soluzioni normali, non sopporta però delle concentrazioni più forti; forse questo impedimento dipende dalla forte pressione osmotica dei liquidi.

CONCLUSIONI

Tutti i saggi fatti mettono in evidenza il grande potere che hanno le Tallofite sperimentate di sopportare forti dosi di sali di magnesio. Si tratta di organismi i quali normalmente si trovano in presenza di dosi minime di tale composto, eppure hanno tale resistenza in grado notevole.

Mi sembra lecito pensare che tale capacità di resistenza possa verificarsi in molte altre specie di Tallofite; fatto questo che mi sembra essere di un interesse biologico generale notevole.

Mentre altre esperienze in corso mi hanno confermato quello che già si sapeva, cioè la grande sensibilità degli organismi superiori rispetto al magnesio e rispetto al

giuoco antagonistico tra calcio e magnesio, è interessante rilevare l'indifferenza che le piante inferiori presentano rispetto a questo antagonismo.

D. Rabinovitz Sereni.

R. Orto Botanico di Padova
Maggio 1933 - XI.

SUMMARY

Some Eumycetes, Schizomycetes, Cyanophyceae and Chlorophyceae have been cultivated in solutions containing increasing doses of $MgSO_4$ to test the degree of resistance of these plants to Mg salts.

The results obtained show that these Thallophytes can live in solutions with strong doses of Mg salts and some of them resist even when in the medium 40% of $MgSO_4$ is present.

BIBLIOGRAFIA.

1. Rabinovitz-Sereni D., *L'influenza del magnesio sullo sviluppo di alcuni funghi.* « Boll. d. R. Staz. d. Pat. Veg. », n. 2, 203-226, 1933.
2. — *L'influenza del magnesio sull' accrescimento e sull' attività del* Saccharomyces Cerevisiae *Hansen.* « Boll. d. R. Staz. d. Pat. Veg. », n. 3, 309-323, 1933.
3. Loew O., *Ueber die physiologischen Functionen der Calcium und Magnesium-salze im Pflanzenorganismus.* « Flora », 1892, 368-394.
4. Canals M. E., *Du rôle physiologique du magnesium chez les végéteaux.* « Bull. Soc. Chim. Biol, », 1928, 10, 1260-1270; 1929, 1, 14-55.
5. Benecke W., *Ueber die Giftwirkung verschiedener Salze auf* Spirogyra, *und ihre Entgiftung durch Calciumsalze.* « Ber. d. D. Bot. Ges. », 1907, XXV, 322-337.
6. Kober B., *Ueber die Physiologie und Morphologie von* Actinomyces oligocarbophilus *und dessen Bedeutung für den Ackerboden.* « Zentralblatt Bakt. », Abt. II, 1929, 79, 370-393.
7. Gunther E., *Beitrag zur mineralischen Nährung der Pilze.* Diss. Erlangen, 1897.
8. Richter O., *Anwendung selektiver Nährboden bei der Reinzucht von Algen* Akad. Anzeiger, Wien, Mat–Natur., 1, 1919.

Osservazioni sulla tossicità del magnesio per le piante superiori

Introduzione. — Il magnesio è universalmente diffuso nei vegetali come gli altri elementi fondamentali (C, H, O). Facendo le analisi delle ceneri dei vegetali si osserva che esso si trova in quantità non trascurabile tanto nelle crittogame quanto nelle fanerogame, dove entra anche a fare parte dei costituenti della clorofilla.

Secondo Canals [1] il magnesio si trova in certi funghi al terzo rango, come costituente degli elementi delle ceneri.

Nelle analisi dei semi si ottengono differenti risultati a seconda che si esamina il seme integro o sbucciato. Nei semi sbucciati abbonda il magnesio in confronto al calcio, il contrario si ha nella buccia. A questi risultati sono giunti, grazie a numerose analisi, Willstätter [2] e Schulze e Godet [3].

I semi ricchi di grassi contengono generalmente più magnesio che quelli amiliferi; tale elemento entra nella composizione della fitina e dei granuli di aleurone. In genere l'MgO si trova nelle ceneri delle parti verdi delle piante in proporzione di 10-15%. Durante la maturazione nei semi aumenta sensibilmente la quantità di magnesio [Czapek, 4].

Secondo Canals [1] il magnesio è più abbondante nelle foglie che nel fusto. Le specie igrofile sono più ricche di magnesio di quelle xerofile. Tra le piante grasse quelle che crescono su terreni salati sono più povere di magnesio. Le felci si comportano all'inverso delle fanerogame, in esse le specie igrofile sono più povere di magnesio di quelle xerofile.

La quantità di magnesio nelle piante varia poco con l'età al contrario del calcio che si trova più nelle foglie vecchie che in quelle giovani.

Riguardo alla tossicità del magnesio per le fanerogame si sono avute le prime nozioni nel 1892 per merito del Loew [5] dopo i suoi importanti lavori sopra l'importanza fisiologica del calcio per le piante. Secondo l'Autore il magnesio è tossico perchè può sostituire il calcio nelle proteine del nucleo. Egli sostiene che un terreno è tanto meno adatto alla coltivazione quanto maggiormente il magnesio supera il calcio. Per ogni pianta vi è un rapporto « optimum » tra calcio e magnesio, per esempio 1 :1 per il riso; 2 :1 per l'orzo etc. La teoria del Loew sull'antagonismo tra calcio e magnesio e in speciale modo le sue affermazioni riguardo ai rapporti quantitativi tra calcio e magnesio per ogni pianta hanno suscitato al principio delle critiche. Gli avversari hanno affermato che le correlazioni fisiologiche tra gli elementi nutritivi sono molto più complesse e non si possono esprimere in semplici proporzioni aritmetiche; secondo loro è molto più importante la forma sotto la quale gli elementi sono dati e non il loro valore quantitativo.

Secondo Hansteen [6] i sali di magnesio, di potassio e di soda agiscono come tossici sulle radici, l'azione è fortemente locale, il plasma e la membrana si disorganizzano. Con l'aggiunta di sali di calcio i sali precedenti perdono la loro tossicità. Una parte di calcio disintossica 2 parti di magnesio e 1000 parti di potassio. Secondo questo Autore il processo della distribuzione delle radici nelle soluzioni di magnesio è il seguente : le membrane cellulari si gonfiano, si sciolgono e cedono alla soluzione sostanze appartenenti ai composti pectici, acidi grassi e fitosterine; la distruzione delle membrane cellulari in presenza di magnesio o di potassio avviene perchè questi sali formano con i componenti delle membrane composti chimici facilmente solubili. Questo non avviene se la soluzione contiene una certa quantità di calcio, probabilmente allora si formano dei composti insolubili.

Lo stesso ha trovato Maschhaupt [7]; secondo questo Autore il calcio, in caso di disintossicazione da magnesio, non può essere sostituito da nessun altro elemento.

Importanza del magnesio per i vegetali. — Il meccanismo intimo dell'azione del magnesio non è ancora conosciuto, nè è ancora sicura l'importanza che esso ha per i vegetali. Varie sono le ipotesi formulate in proposito.

L'importanza del magnesio non si limita alla formazione della clorofilla, il fatto che esso si trova anche in organi importanti diversi da quelli clorofilliani, la sua presenza nei frutti e nei semi, la sua necessità e richiesta in quantità notevoli per le piante prive di clorofilla come i funghi e batteri, stanno a dimostrare per il magnesio una funzione fisiologica estesa oltre quella speciale di entrare a fare parte della clorofilla.

Secondo Loew [8] i sali di magnesio sono i portatori dell'acido fosforico per la formazione delle nucleine, caseine e lecitine. La formazione di nucleine ricche di fosforo reclama la presenza di un fosfato facile a dissociarsi, il fosfato magnesiaco risponde a questi requisiti.

Alle stesse constatazioni è arrivato il Bernardini [9]; egli scrive in proposito: « L'accumularsi del magnesio nel seme e specialmente nell'embrione insieme con acido fosforico sotto una combinazione fosfo-organica scindibile per azione enzimatica è sufficiente a dimostrare come a questo metallo alcalino-terroso, fra gli altri uffici, debba spettare il compito di neutralizzare l'acido fosforico ».

Euler afferma che il magnesio segue strettamente l'albumina meristematica, partecipa a molte combinazioni semplici che possono essere realmente adatte a contribuire all'edificazione della molecola albuminoidica.

Secondo Saizeva [11] il magnesio è efficace per le alghe anche al buio; con una breve illuminazione esso ha un'influenza benefica sulla attività dei leucofilli e entra nella loro composizione.

Chodat [12] crede che il magnesio abbia importanza anche nelle catalisi, specialmente in quella del glucosio operata dalle zimasi. Egli suppone che il magnesio pren-

da parte in maniera indiretta alla respirazione anaerobica.

Bertrand ha dimostrato il potere catalitico del magnesio nei fenomeni di ossidazione delle laccasi.

In biologia vegetale il magnesio sembra essere un agente catalitico di primo ordine. Willstätter [2] dopo molti anni di ricerche è arrivato alla conclusione che certe diastasi, come per esempio le saccarasi debbono al magnesio il loro potere specifico. Lo stesso ha confermato Canals [10].

Nel corso delle mie ricerche sulla tossicità del magnesio ho constatato la singolare resistenza delle tallofite a dosi elevate di questo elemento [13], evidentemente tali constatazioni contrastano con quelle già note e ben diverse relative alle piante superiori. Mi è sorto quindi naturale il desiderio di ripetere quanto ho fatto nelle tallofite, nelle piante superiori.

Alcuni saggi di orientamento, che del resto hanno subito confermato quanto si sapeva relativamente alla tossicità del magnesio, mi hanno orientato verso il programma di lavoro seguente:

1. — Caratteri esteriori dell'intossicazione da magnesio.
2. — Ricerche anatomopatologiche sugli organi avvelenati da magnesio.
3. — Influenza sull'attività di alcuni enzimi.
4. — Turbe respiratorie.
5. — Turbe di accrescimento.

1. — Caratteri esteriori dell' intossicazione da magnesio.

Ho coltivate piante acquatiche e terrestri in acqua di fonte contenente l'1% di solfato di magnesio per constatare le manifestazioni morfologiche dell'intossicazione da magnesio.

Le piante in esame appartengono a gruppi varii di piante pluricellulari:

Chara sp.
Salvinia auriculata.
Lycopodium apodum.
Elodea canadensis.
Tradescantia virginica.
Myriophyllum.
Lemna polyrrhiza.

Chara. — Sette giorni dopo l'inizio degli esperimenti mentre gli individui di controllo tenuti in acqua semplice si erano allungati di cm. 1 e ½, erano consistenti e di colore molto verde, gli individui tenuti in Mg SO_4 all'1% non erano cresciuti affatto. Tutte le cellule erano ingiallite e i singoli elementi si disarticolavano con estrema facilità.

Salvinia auriculata. — Otto giorni dopo il trapianto i controlli erano normali; nelle piante coltivate nella soluzione contenente Mg si nota che sulle foglioline appaiono delle macchie nere, nei giorni seguenti l'imbrunimento procede dai margini verso il centro. Al microscopio si osservano cellule molto imbrunite. Le foglie si disarticolano facilmente, e quando sono staccate dal fusto anneriscono del tutto. L'accrescimento è stato nullo.

Lycopodium apodum. — Già nei primi giorni di sperimentazione si nota un impallidimento del colore verde delle foglioline, nei giorni seguenti queste cominciano ad appassire. Le piantine non crescono affatto.

Elodea canadensis. — Quattro giorni dopo il trapianto le piantine tenute nella soluzione di solfato di magnesio all'1% hanno i nodi imbruniti e questo imbrunimento si estende lungo il fusticino. Le macchie brune si allargano in seguito su tutte le foglioline, specialmente lungo la nervatura centrale, e sono molto accentuate in corrispondenza dei nodi del fusto. Le foglioline si disarticolavano con grande facilità. Accrescimento nullo.

Tradescantia virginica. — Pezzi di piante sono state messe colla parte inferiore in soluzione di solfato di magnesio all'1%, mentre i controlli erano tenuti nell'acqua. Cinque giorni dopo il trapianto, mentre le piante controllo hanno emesso delle radici vigorose di 35 mm. con molti peli radicali, quelle tenute in soluzione di magnesio hanno emesso radici di 20 mm. senza peli, molto brune; inoltre nei giorni seguenti queste radici non hanno continuato il loro accrescimento.

Myriophyllum. — Già tre giorni dopo l'inizio dell'esperimento le foglie sono completamente disarticolate dal fusto, sono quasi prive di clorofilla e tutte contengono molto meno amido delle foglioline normali.

Lemna polyrrhiza. — Tre giorni dopo il trapianto le piantine tenute in $MgSO_4$ all'1% non hanno più il colore verde normale; nei giorni seguenti l'imbrunimento diventa più manifesto, al microscopio si nota che in ogni cellula vi è un grande corpo imbrunito e granuli bruni sono sparsi qua e là nelle cellule e nelle radici.

Dagli esperimenti su esposti si può concludere che:

il magnesio dato in dosi forti ostacola il normale funzionamento della clorofilla. Questa diminuisce e sparisce del tutto;

l'imbrunimento da magnesio procede lungo i vasi e le nervature;

l'azione del magnesio sembra si concentri in modo particolare in corrispondenza dei nodi, cosicchè negli individui a fusti articolati si osserva spesso disarticolazioni;

il magnesio impedisce del tutto l'accrescimento.

Ho eseguito un'altra serie di saggi immergendo con la parte inferiore porzioni di foglie staccate in soluzioni di solfato di magnesio all'1%.

Bryophyllum calycinum. — Sei giorni dopo l'immersione della base delle foglie si nota che la zona che circonda la nervatura centrale, alla base fogliare, è comple-

tamente ingiallita. Le cellule sono morte, non contengono affatto clorofilla; facendo delle sezioni trasversali della lamina si vede, al microscopio, che i vasi sono imbruniti; sezioni longitudinali mettono in evidenza la necrosi che procede dal picciolo lungo la nervatura mediana.

Sempervivum sp. — Quindici giorni dopo l'inizio dell'esperienza si nota l'imbrunimento che sale dalla base della foglia fino all'altezza di 2 cm. Questa zona è completamente necrotizzata.

Kalanchoe fulgens marmorata. — Sei giorni dopo l'inizio dell'esperimento la base fogliare è imbrunita. Facendo delle sezioni trasversali in questa zona si nota il forte annerimento dei vasi e l'imbrunimento di molte cellule, sparse.

Cotyledon fulgens. — Dopo 15 giorni la foglia immersa nella soluzione di solfato di magnesio all'1% aveva la base fino all'altezza di 2 cm. completamente imbrunita, il tessuto era morto e fragile.

Iris, Narcissus. — Ponendo le foglie di queste piante nella soluzione all'1% l'imbrunimento della base avviene già tre giorni dopo l'immersione. L'imbrunimento prosegue poi lungo i vasi fino a raggiungere l'estremità delle foglie. Queste non assorbono più la soluzione divenendo flaccide e fragili.

Per accertarmi che l'intossicazione era dovuta al catione magnesio ho fatto alcuni esperimenti di controllo mettendo le foglie in esame in una soluzione all'1% di cloruro di calcio; nè l'imbrunimento nè la morte si sono verificati.

Mettendo le foglie in soluzioni contenenti dosi equivalenti di magnesio e calcio all'1% non si ha alcun sintomo di intossicazione. Entra in gioco il fenomeno noto sotto il nome di antagonismo tra calcio e magnesio.

Azione del magnesio sui rami staccati.

Salice. — Rami di salice appena recisi sono stati immersi con la parte inferiore parte in acqua e parte in

una soluzione di solfato di magnesio all'1%. Già dopo 5 giorni facendo una sezione trasversale del legno si vede un forte imbrunimento della zona perimidollare e nel libro. Nelle sezioni longitudinali si nota chiaramente che l'imbrunimento procede lungo i vasi, però anche 15 giorni dopo il fusto non era completamente morto, ma capace ancora di emettere radici, benchè molto sottili.

Nei rami molto avvelenati si nota che le zone corticali e midollari sono molto imbrunite, l'imbrunimento passa dalla zona esterna all'interna attraverso i raggi midollari. Vi sono anche molte cellule col contenuto completamente imbrunito.

Oleandro. — Anche in questo si ha l'imbrunimento descritto precedentemente, però l'intossicazione è più lenta.

Tiglio. — I rami di questo si comportano come i rami dell'Oleandro.

Nelumbio. — Pezzi di fusto, radici e foglie sono stati immersi nella soluzione magnesiaca. Tre giorni dopo l'inizio delle esperienze si vede facilmente che tutti i vasi sono molto imbruniti. L'imbrunimento diventa sempre più forte nei giorni seguenti.

AZIONE DEL MAGNESIO SU TUBERI E FRUTTI.

Una patata è stata tagliata a metà: delle due superfici l'una è stata tenuta umida con l'acqua e sull'altra ho versato una soluzione di solfato di magnesio all'1%; dopo poche ore si nota che la superficie trattata col magnesio è molto più imbrunita del controllo.

Gli stessi risultati ho avuto con le rape, col radicchio, con le pere e le mele.

2. — Ricerche anatomopatologiche sugli organi avvelenati da magnesio.

In tutte le esperienze riferite nel paragrafo precedente ho accennato come frequentemente si osservino elementi cellulari imbruniti a lato di altri aventi aspetto perfetta-

mente normale. Si tratta anzitutto degli elementi vascolari, i quali, si può dire costantemente e con intensità maggiore in prossimità delle parti a cui arrivano le soluzioni, sono fortemente imbruniti. Negli organi fogliari specialmente nelle piante succulente sono anche numerose cellule parenchimatiche imbrunite non tanto nelle membrane cellulari quanto nel contenuto.

Alcuni saggi preliminari intorno ai vasi imbruniti mi hanno fatto subito escludere l'ipotesi che si trattasse della umificazione della membrana. Poichè gli elementi parenchimatici anneriti coincidevano spesso con cellule ricche di antocianina, pensai che l'annerimento poteva riferirsi a cellule a tannino e a tannoide. Eseguii allora sistematicamente ricerche sulla localizzazione dei materiali tannici negli organi che avevo sperimentato riguardo all'azione del magnesio.

Eseguii saggi sia col bicromato sia coi sali ferroso ferrici. I risultati stabilirono nettamente come tutti i casi di annerimento fossero localizzati alle cellule contenenti più o meno tannino e come, a seconda che il tannino fosse localizzato nella membrana o nel contenuto, gli annerimenti si localizzassero rispettivamente nella membrana o nel contenuto cellulare.

Debbo aggiungere come esili radici di pochi giorni di età di pisello, di cece e di fagiolo presentassero anche esse tali annerimenti se fossero immerse nelle soluzioni di solfato di magnesio.

In molti casi si trattava di cellule morte, ma dato il graduale progredire dell'annerimento lungo le cellule vasali era evidente che l'annerimento si verificava anche in vita. Posso ricordare a proposito come rami di salice immersi con la parte inferiore in soluzione magnesiaca avessero sviluppato in laboratorio gemme e radici pur presentando, come gli altri, l'imbrunimento in corrispondenza delle cellule tannificate.

Pensai che il tannino o i materiali tannoidi in genere subissero un annerimento sotto l'influenza del magnesio,

e pensai a un'azione enzimatica determinata o favorita dal magnesio stesso. Ho deciso perciò di studiare l'influenza dei sali di magnesio sull'attività delle catalasi e delle perossidasi.

3. — Influenza del magnesio sulle catalasi.

Un primo saggio di orientamento è stato fatto prendendo pezzi di tessuto parenchimatico: rape, radicchio, barbabietole, pere e mele immersi in soluzioni di magnesio. Dopo tre giorni dall'inizio degli esperimenti, mentre i controlli conservavano evidente l'azione della catalasi, i tessuti tenuti in presenza del magnesio lo avevano perduto.

Ho preparato allora un succo con estratto contenente catalasi, lasciando macerare per 24 ore poltiglie di patate in acqua e filtrando la soluzione.

Ho preparato due serie di tubi da saggio, in uno ho messo della soluzione contenente l'enzima e nell'altra ho messo le stesse goccie con aggiunta di qualche goccia di una soluzione di $MgSO_4$. Alle due serie dei tubi ho aggiunto poi l'acqua ossigenata e dopo qualche minuto ho misurato l'altezza della schiuma gazosa formata sulla superficie dei liquidi.

Facendo i calcoli delle diluizioni ho potuto accertarmi, come si vedrà chiaramente dalla tabella seguente, che il magnesio a forte diluizione (1 :13 000) stimola l'attività della catalasi. Alle soluzioni più concentrate fino a raggiungere l'1 :5000 rimane indifferente; questa concentrazione costituisce la soglia della tossicità. Infatti alla diluizione di 1 : 2600 il magnesio è tossico per la catalasi e la tossicità aumenta con la concentrazione del sale di magnesio. Nella tabella che segue sono esposti i risultati di alcuni esperimenti fatti sull'azione del magnesio a varie diluizioni sulle catalasi; accanto a ogni risultato è segnato il controllo, cioè l'altezza in millimetri di schiuma

prodotta dalle catalasi nella soluzione tenuta nelle medesime condizioni ma non trattata col magnesio:

normale		=	15	mm. di schiuma
Mg SO_4	1/13.000	=	22	» »
normale		=	22	mm. di schiuma
id.	1/7.000	=	22	» »
normale		=	8	mm. di schiuma
id.	1/6.500	=	8	» »
normale		=	22	mm. di schiuma
id.	1/2.600	=	20	» »
normale		=	25	mm. di schiuma
id.	1/1.400	=	20	» »
normale		=	14	mm. di schiuma
id.	1/1.000	=	9	» »
normale		=	16	mm. di schiuma
id.	1/800	=	10	» »
normale		=	23	mm. di schiuma
id.	1/325	=	11	» »
normale		=	18	mm. di schiuma
id.	1/175	=	9	» »

Posso dedurre che a dosi molto diluite il magnesio stimola un po' la catalasi, mentre a dosi più forti la inibisce. Nella letteratura esistente sull'argomento si legge che il magnesio ha sempre azione ostacolante sulle catalasi.

Secondo Weichardt non esiste una sostanza che possa stimolare le catalasi del sangue: tutte le aggiunte sono indifferenti o ostacolanti. Tutti gli altri lavori sull'argomento sono concordi nell'affermare che tutti i sali ostacolano la catalasi e i cationi dei sali alcalini sono indifferenti. Nei sali bivalenti (alcalini terrosi, magnesio) il catione ha sempre un'azione ostacolante.

Secondo Santesson il Mn SO_4 dato in piccolissima quantità stimola le catalasi dei muscoli. (Da Oppenheimer 14).

4. — Influenza del magnesio sulle perossidasi.

Ho preparato un estratto contenente perossidasi lasciando macerare in acqua una poltiglia di rape. Ho scelto tali organi perchè al contenuto in perossidasi univano l'assenza di sostanze tannoidiche, per cui l'estratto si conservava abbastanza chiaro e non imbruniva, come avviene così frequentemente per una quantità di estratti vegetali.

Ho preparato due serie di tubetti da saggio e vi ho messo quantità uguali del succo con le perossidasi; in una serie ho aggiunto qualche goccia di una soluzione di solfato di magnesio e l'altra serie ha servito da controllo.

In tutte e due le serie dei tubicini ho aggiunto poi una goccia di acqua ossigenata e una di una soluzione di benzidina in alcool. Immediatamente tutti i liquidi hanno assunto una colorazione dal celeste al bleu; i liquidi della serie contenenti magnesio erano molto più scuri dei controlli. È da aggiungere che la velocità di reazione era molto maggiore nei saggi trattati col magnesio.

Un estratto di rapa con perossidasi fu addizionato di uguale volume di alcool forte; ne ottenni un precipitato fioccoso che, separato per centrifugazione, fu ripreso con acqua. Pensai in questo modo che mentre il precipitato fioccoso sarebbe stato ricco di proteine, di materiali gommosi e di enzimi, il liquido idroalcoolico rimanente avrebbe contenuto soluzioni ionizzate magnesiache, nonchè fosfatidi; avrebbe insomma contenuto la massima parte di magnesio e il precipitato enzimatico sarebbe stato povero di magnesio. È appunto tale precipitato enzimatico che, ripreso con acqua, mi ha dato una soluzione da saggiare nella sua attività rispetto al magnesio.

Aggiungendo a questo liquido una goccia di acqua ossigenata, e una di benzidina, si ha una colorazione celeste debolissima, mentre la colorazione diventa bleu

scura appena aggiunta al liquido in esame una goccia di una soluzione magnesiaca.

Si può dedurre dagli esperimenti sopracitati che mentre in assenza di magnesio o in presenza di tracce di questo le perossidasi non sono affatto attive, la loro azione viene stimolata con l'aggiunta di magnesio.

Ho voluto precisare la soglia al di là della quale il magnesio stimola l'attività delle perossidasi. Ho potuto constatare che:

Aggiungendo al tubicino una goccia di sale di magnesio all'1‰, cioè se il magnesio è della diluizione di 1/15.000, non si ha alcun effetto stimolante per le perossidasi.

Gli stessi risultati si hanno con la diluizione del solfato all'1/7500.

Aggiungendo al tubicino contenente perossidasi una goccia di soluzione all'1/200, cioè se questo sale è dato nella diluizione dell'1/3000, si ha un'azione stimolante molto evidente sull'attività delle perossidasi.

Aumentando le concentrazioni di magnesio, adoperando soluzioni di solfato di magnesio all'1%, 5%, 10% e perfino 40%, si ha sempre un'azione stimolante. Anche mettendo in ogni tubetto un po' della polvere di solfato di magnesio l'attività delle perossidasi viene stimolata.

Si può dedurre da tutti questi saggi che il magnesio, dalla concentrazione di 1/3000 fino a quella fortissima di 40%, stimola sempre l'attività delle perossidasi.

Ritengo di potere affermare che l'annerimento del sistema tannifero è determinato dall'azione del magnesio.

Ho ricercato se si trattasse di una attivazione di una perossidasi. Ho eseguito ricerche su estratti di rapa, ravanelli e cipolla, ricchi in perossidasi ma che non anneriscono all'aria che lentamente, li ho addizionati sia semplicemente di soluzione diluita di tannino, sia di tannino più magnesio, ma non ho avuto risultati apprezzabili.

Ho preparato inoltre delle sezioni di ravanelli e li ho bagnati con una soluzione tannica addizionata o no di

magnesio, anche in tal caso però nessun risultato apprezzabile si è verificato.

Ritengo perciò che l'annerimento che si verifica nelle cellule tannifere delle piante da me sperimentate sia da ascriversi a un fenomeno alquanto più complesso, che non a una semplice azione perossidasica.

5. — Turbe respiratorie.

La singolare azione che il magnesio esercita sopra materiali così facilmente ossidabili, come tannini e sopra gli enzimi del gruppo delle ossidasi, mette in evidenza la possibilità che si abbiano a verificare delle turbe respiratorie sotto l'influenza dell'intossicazione da magnesio.

Ho studiato i fenomeni che si verificano quando delle radici in piena attività vengono poste in soluzioni nelle quali siano dosi forti di magnesio addizionate di bleu di metilene, la cui decolorazione può dare un indice della attività respiratoria.

La parte superiore del liquido era separata con un po' di olio di vasellina dal contatto dell'aria.

Le osservazioni sulla riduzione del bleu di metilene sono state fatte 24 ore dopo l'esperimento.

Mi sono servita delle soluzioni di solfato di magnesio all'1/1000, 1/500, 1/200 e 1/100.

Ho eseguito ricerche su semi germinanti di frumento, pisello, fagiolo, lupini e ceci.

Frumento. — Le piantine sono state messe nelle soluzioni di magnesio e subito trattate col bleu di metilene. Si è avuta la riduzione massima nel Mg 1/500 poi in quello a Mg 1/1000 e in ultimo in acqua. Le radici tenute nel Mg all'1% non hanno ridotto affatto il liquido colorato.

Le piantine sono state tenute nelle soluzioni di magnesio un giorno, e poi trattate col bleu di metilene; i risultati furono eguali.

Il trattamento col bleu di metilene è stato fatto due giorni dopo il trapianto: si è avuta la massima riduzione nell'acqua, un po' meno nel Mg all'1‰ e anche questa in ritardo rispetto ai controlli. Nessuna riduzione si è verificata nella soluzione del Mg all'1/500.

Gli stessi risultati si sono avuti 3-4 giorni dopo il trapianto.

Risulta chiaramente da questi esperimenti che le radici di frumento tenute nelle soluzioni di solfato di magnesio all'1/500 e all'1/1000 per un solo giorno respirano più attivamente dei controlli tenuti in acqua. Il magnesio, in queste dosi e per questa durata, agisce come stimolatore della respirazione.

Il Mg a 1/500 rallenta la respirazione delle radici se esercita la sua azione per due giorni consecutivi.

Il solfato di magnesio nella concentrazione dell'1% ha un'azione inibente immediata sulla respirazione delle radici.

Piselli. — Le radici di pisello tenute nelle soluzioni di magnesio all'1% per un solo giorno e poi passate in soluzione di bleu di metilene riducono la soluzione colorante più rapidamente che i controlli, questo dimostra che anche le soluzioni concentrate di magnesio stimolano la respirazione, se esercitano il loro effetto sulle radici per pochissimo tempo.

Il magnesio all'1% diventa tossico per le radici dopo un giorno, a 1/500 lo diventa dopo due giorni e a 1/1000 ostacola un po' la respirazione se agisce sulle radici per più di tre giorni, in queste condizioni la riduzione del liquido colorato avviene in ritardo rispetto ai controlli.

Fagiolo. — Con le radici di fagiolo ho avuto gli stessi risultati che con i piselli descritti nel caso precedente.

Lupini. — La soluzione di solfato di magnesio all'1/500 se esercita la sua azione per un solo giorno stimola la respirazione delle radici.

Dopo due giorni la riduzione non è più completa, mentre il magnesio all'1/1000 stimola ancora la respirazione.

Se il bleu di metilene viene introdotto dopo tre giorni dal trapianto, anche le radicine tenute nella soluzione all'1/1000 respirano più stentatamente che i controlli.

Il magnesio nella concentrazione dell'1% ostacola molto la respirazione dopo un solo giorno dal trapianto.

Ceci. — I ceci trattati col magnesio hanno dato gli stessi risultati che i lupini.

Si può dedurre che il solfato di magnesio all'1% ha un'azione tossica quasi immediata sulle radici dei semi germinanti. L'azione tossica è più rapida nel grano che nelle altre radici perchè nel primo sono più sottili e il liquido vi penetra più rapidamente.

Il Mg a 1/500 e a 1/1000, dati per poco tempo, stimolano la respirazione delle radici; se la loro azione è più prolungata inibiscono la respirazione.

Anche Zaleski e Reinhardt hanno constatato che la energia respiratoria dei semi di Lupino, Mais e Fagiolo aumenta trattandoli con $MgSO_4$.

6. — Turbe di accrescimento.

Tutte le esperienze che io ho eseguito provano in modo evidente la notevole azione del magnesio sopra i tessuti delle piante superiori. Le osservazioni fatte relative alla attività respiratoria ne sono un esempio, ma evidentemente tale azione è assai più varia ed estesa di quello che ho potuto osservare negli esperimenti riferiti. Essa però si può sintetizzare nella funzione generale di accrescimento e ho seguito alcuni saggi in questo campo.

Ho voluto vedere se piantine messe a crescere in soluzioni contenenti varie dosi di magnesio rallentano o arrestano il loro sviluppo.

Allo scopo ho messo semi germinati in tubi da saggio contenenti le soluzioni in esame ed ho misurato giorno per giorno il loro allungamento.

Frumento. — Al momento del trapianto tutte le radici avevano la lunghezza di 30 mm.

Le piantine di controllo sono state tenute in acqua semplice. 12 giorni dopo il trapianto:

Acqua	fusto = 17 mm.		Radici = 140 mm.		con radici secondarie.			
Mg 1/1000	» = 18 mm.		» = 130 mm.		senza	»		»
Mg 1/500	» = 18 mm.		» = 120 mm.		»	»		»
Mg 1/200	» = 19 mm.		» = 90 mm.		»	»		»
Mg 1/100	» = 14 mm.		» = 60 mm.		»	»		»

Le radici tenute nel magnesio all'1% erano molto imbrunite e di aspetto misero.

Risulta che mentre le soluzioni diluite di magnesio qualche volta stimolano l'accrescimento dei fusticini di frumento, inibiscono sempre quello delle radici.

È da notare inoltre che mentre nell'acqua si formano delle radici secondarie, nelle soluzioni di magnesio questo non avviene.

La soluzione di solfato di magnesio all'1% inibisce di molto l'accrescimento delle radici, però diventa letale solo dopo un'azione prolungata di una diecina di giorni, allora l'accrescimento delle radici si arresta del tutto.

Pisello. — Otto giorni dopo il trapianto di piantine di pisello con radici della lunghezza di 20 mm. in acqua e nelle soluzioni di magnesio si ha:

Acqua	fusto = 120 mm.		Radici = 65 mm.		con radici secondarie.			
Mg 1/1000	» = 110 mm.		» = 45 mm.		senza	»		»
Mg 1/500	» = 50 mm.		» = 35 mm.		»	»		»
Mg 1/200	» = 45 mm.		» = 30 mm.		»	»		»

Nei giorni successivi mentre tutte le radici continuavano a crescere, quelle tenute nella soluzione di magnesio all'1% avevano arrestato completamente il loro sviluppo ed acquistato il colore bruno già constatato nelle radici del frumento.

Fagiolo. — 8 giorni dopo il trapianto di piantine aventi radici della lunghezza di 25 mm., in acqua e nelle soluzioni di magnesio si ha:

Acqua	fusto = 90 mm.	Radici = 120 mm.	con lunghissime radici secondarie.
Mg 1/1000	» = 90 mm.	» = 70 mm.	solo un accenno di radici secondarie.
Mg 1/500	» = 70 mm.	» = 50 mm.	senza rad. secondarie.
Mg 1/200	» = 55 mm.	» = 40 mm.	»	»	»
Mg 1/100	» = 20 mm.	» = 30 mm.	»	»	»

nei giorni successivi le radici tenute in magnesio all'1% non hanno continuato a crescere e divennero brune.

Esperimenti fatti anche su lupini e ceci hanno dato sempre gli stessi risultati, cioè: Le soluzioni di solfato di magnesio dall'1/1000 in più inibiscono l'accrescimento delle radici. Mentre le soluzioni a 1/1000, 1/500 e 1/200 lo rallentano soltanto; quelli di magnesio all'1% lo arrestano del tutto dopo qualche giorno.

Nelle soluzioni di magnesio non si formano affatto delle radici secondarie. Anche Hansteen [6] e Wiechmann [16] hanno trovato che mentre la formazione dei peli radicali viene stimolata da sali di calcio, viene quasi del tutto inibita dalle soluzioni di magnesio.

Canals [10] ha fatto ultimamente delle esperienze riguardo all'azione del Mg sulle radici di parecchie piante ed è arrivato alle conclusioni seguenti:

1) A concentrazioni inferiori a 1/10.000 il magnesio favorisce lo sviluppo delle radici e dei fusti.

2) L'azione tossica di questo metallo sulle radici comincia dalla concentrazione di 1/10.000.

3) Questa dose non è ancora tossica per i fusti, per questi è tossica la concentrazione del 5/10.000.

4) Il magnesio esercita un disturbo sul geotropismo delle radici, specialmente in quelle del lupino; queste si sviluppano in senso orizzontale.

Gemmiazione delle foglie di Bryophyllum in presenza di magnesio.

Foglie di *Bryophyllum* sono state messe in vasi contenenti sabbia. Alcune, quelle che hanno servito come controllo, sono state innaffiate con acqua di fonte, altre con una soluzione di magnesio all'1%. I vasi sono stati tenuti in serra, dove la temperatura era di 15° e l'umidità prossima alla saturazione.

Un mese dopo il trapianto ho osservato che: nel vaso innaffiato con l'acqua le foglie hanno emesso abbondanti radici nella terra, alla base delle foglie sono apparsi germogli nuovi, le foglie madri avevano un colore verde intenso, normale.

I vasi innaffiati con la soluzione di solfato di magnesio all'1% avevano le foglie di un colore verde rossastro, contenevano molta antocianina, molto più dei controlli (indice di sofferenza di xerofitismo). Alla base delle foglie non vi era alcuna radice, ed erano perciò completamente staccate dal terreno. Le basi fogliari erano molto imbrunite specialmente nella zona intorno alla nervatura centrale. Nelle insenature della parte superiore delle foglie si sono formate al principio numerose radichette aeree, e, in seguito, gemme e piantine nuove, normali.

Risultano evidenti le profonde turbe che si verificano in conseguenza dell'intossicazione da magnesio: rallentamento di sviluppo, soppressione quasi completa delle radici aeree, arresto della formazione delle gemme avventizie nelle foglie di *Bryophyllum*.

Si potrebbe osservare che alcune di queste lesioni potrebbero essere date dalla pressione osmotica delle soluzioni; ho provato perciò a trattare alcuni degli organi che hanno servito per i miei precedenti esperimenti invece che con un sale di magnesio con soluzioni notevolmente concentrate di salnitro, ma non si sono mai verificate le turbe notate col magnesio. Debbo perciò escludere un fattore osmotico in questi risultati.

CONCLUSIONI

L'azione di soluzioni di magnesio eccedenti le concentrazioni normalmente utilizzate dalle piante e non equilibrate da calcio, determinano, come del resto è già noto, una profonda intossicazione delle piante superiori, in netta differenza con quanto ho notato per le piante inferiori.

Tale intossicazione che si riassume in profonde turbe di accrescimento nelle parti degli organi più direttamente colpiti dall'azione del magnesio; turbe dovute probabilmente ad alterata funzione cariocinetica nonchè a profonde alterazioni della funzione respiratoria.

Di tale alterata funzione respiratoria ho rilevato degli indici nel comportamento rispetto al bleu di metilene nel senso che l'avvelenamento per parte del magnesio riduce il potere di ossido-riduzione.

Ricercando l'azione specifica su gli enzimi ho osservato come, mentre le catalasi sono a minima dose sensibilizzate dall'azione del magnesio, non lo sono a forte concentrazione, anzi in questo caso l'attività delle catalasi viene ostacolata.

Le perossidasi sono nettamente favorite dalla presenza di magnesio. Anzi dalle mie ricerche sorge il dubbio se realmente le perossidasi possono agire in assenza di magnesio.

Un esponente da ritenersi caratteristico dell'intossicazione da magnesio è l'imbrunimento che viene determinato nelle cellule a tannino.

D. Rabinovitz Sereni.

R. Orto Botanico di Padova.
Maggio 1933-XI.

SUMMARY

The purpose of the researches exposed was to establish the toxical effects of Mg to superior plants; the following results have been obtained.

Mg solutions, exceeding the normal concentrations used by plants and not balanced by Ca, produce a strong

poisoning of the superior plants in sharp contrast with the A. observations on inferior plants.

As a consequence of the poisoning action of Mg, severe troubles in growth are observed, probably due to altered caryokinesis or to alteration in the respiratory process.

In regard with enzimes the A. has observed that the action of catalases is hindered by high concentrations of Mg, whilst the peroxidases are greatly stimulated.

BIBLIOGRAFIA.

1. Canals M. E., *Du rôle physiologique du magnesium chez les végétaux.* « Bull. Soc. Chim. Biol. », 1928, 10: 1260-1270.
2. Willstätter R., *Ueber den Calcium - und Magnesiumgehalt einiger Pflanzensamen.* « Zeitschr. physiol. Chem. », LVIII: 438-439, 1909.
3. Schulze E., Godet Ch., *Ueber den Calcium-und Magnesiumgehalt einiger Pflanzensamen.* « Zeitsch. Physiol. Chem. », LVIII: 156-160, 1908.
4. Czapek F., *Biochemie der Pflanzen.* II. edizione, 1920, pag. 330.
5. Loew O., *Ueber die physiologischen Funktionen der Calcium-und Magnesiumsalze im Pflanzenorganismus.* « Flora », 75: 368-394. 1892.
6. Hansteen B., *Ueber das Verhalten der Kulturpflanzen zu den Bodensalgen.* « Jahrb. wiss Bot. », 47, 289-376, 1910.
7. Maschhaupt J. C., *Over antagonistische werkingen van zouten bij planten.* « Ref. Bot. Centrbl. », 1918, 138. p. 274.
8. Loew O., *Zur Theorie der Magnesiumfunktionen in der Pflanze.* « Ernährung der Pflanze », 1930, 26, 477.
9. Bernardini L., *Sulla composizione chimica dell'embrione del riso.* « Rend. Acc. dei Lincei », vol. XXI, 1912, pag. 283.
10. Canals M. E., *Du rôle physiologique du Magnesium chez les végétaux.* « Bull. d. Soc. Chim. Biolog. », 1929, n. 1, pag. 14.
11. Saizeva A. A., *About the influence of Mg on the chlorophyll accumulation in the tissue of some algae and superior plants.* « Bull. Inst. Leshaft », 1929, 15: 137-175. (Russo con conclusioni in inglese).
12. Chodat R., *Principes de Botanique.* 1911. pag. 103.
13. Rabinovitz-Sereni D., *Sull'accrescimento di alcune tallofite in soluzioni contenenti fortissime dosi di magnesio.* « Boll. d. Staz. di Pat. Veg. », n. 3, 338-345, 1933.
14. Oppenheimer Carl., *Die Fermente und ihre Wirkungen.* 1926, vol. II, pag. 1841.
15. Kisser J., *Zur Analyse chemischer Reizerfolge auf die Samenkeimung.* « Beit. zur Biol. der Pflanzen », Bd. XX, 59-76, 1932.
16. Wiechmann F., *Zur theorie der Magnesium narkose.* « Pflügers Arch. », 182: 74-103, 1920.

Sulla sensibilità delle piante all'azione dell'acido ossalico e dei sali di magnesio

In seguito alle mie ricerche sulla tossicità del magnesio per gli organismi del regno vegetale sono arrivata alle conclusioni che, mentre tutte le piante superiori soffrono se vengono coltivate in soluzioni nutritizie contenenti magnesio in dosi elevate, gran parte delle tallofite non risentono affatto l'azione tossica del magnesio e continuano a crescere normalmente anche in liquidi contenenti soluzioni concentrate di questo elemento [1, 2].

Si poteva supporre che le piante contenenti clorofilla, le autotrofe, non resistessero all'azione del magnesio, mentre le eterotrofe, prive di clorofilla, come i funghi e i batteri, non risentissero alcuna azione tossica da questo elemento. Ma anche questa supposizione non regge di fronte ai risultati degli esperimenti, visto che le alghe unicellulari come le chlorelle, benchè autotrofe, crescono bene in soluzioni nutritizie contenenti 20% di solfato di magnesio.

Ho pensato allora che forse il magnesio in dosi forti è nocivo solo per le piante per le quali è indispensabile il calcio; cosicchè il fenomeno ben noto dell'antagonismo del magnesio verso il calcio potrebbe essere interpretato come uno spostamento che il magnesio esercita verso il calcio in combinazione organica, così da determinare turbe funzionali. Inversamente, forti dosi di calcio sono sufficienti a impedire che il magnesio riesca a spostarlo da quelle combinazioni nelle quali il calcio esercita una funzione così fondamentale.

Questa ipotesi poteva essere formulata, dato il fatto noto che mentre le fanerogame hanno un assoluto bisogno di calcio, alcune tallofite come i funghi e i batteri posso-

no vivere normalmente, anche in assenza di questo elemento, mentre per questi è indispensabile il magnesio.

I saccaromiceti sono stati coltivati senza calcio da Mayer, l'*Aspergillus* da Raulin [3], il *Mycoderma* da Winogradsky [4].

Weri ha trovato che per il *Coprinus* il calcio non è necessario; lo stesso hanno trovato Hori [5] per gli Imenomiceti e Weir [6] per alcuni funghi del terreno.

Molisch [7] ha constatato che *Aspergillus, Microthamnion, Stichoccocus* e *Pleuroccocus* vivono in completa assenza di calcio.

Loew [8] ha sostituito nelle soluzioni nutritizie il calcio con acido ossalico o con ossalato solubile, in queste condizioni la *Sterigmatocystis nigra* si è sviluppata perfettamente, lo stesso è avvenuto per il *Penicillium, Fusarium roseum* e *Rhizopus* ebbero lo sviluppo indebolito e il *Cephalothecium roseum* stentò a svilupparsi. Secondo questo Autore i fermenti del vino non risentono alcuna azione tossica anche se coltivati in una soluzione nutritizia contenente ossalato al 4%.

Secondo Kufferath [9] il calcio non è indispensabile per le alghe, però è utile perchè costituisce per le membrane un elemento di solidificazione.

Per lavorare intorno a tale ipotesi ho sperimentato l'azione tossica ben conosciuta dall'acido ossalico sulle diverse specie delle quali avevo nei miei precedenti lavori indagato l'azione del magnesio.

A questo scopo ho eseguito colture in soluzioni contenenti a diverse diluizioni dell'ossalato neutro di potassio. Ho coltivato in tale modo le tallofite: batteri, ifomiceti, fermenti e alghe; tra le cormofite ho sperimentato su semi di pisello e di ceci germoglianti e poi su piantine già evolute di *Salvinia, Lycopodium, Lemna, Myriophyllum, Pontederia* e altre.

Tutte queste cormofite erano già abbastanza sviluppate, quindi normalmente fornite di calcio; vi erano così due gruppi di esperienze: l'uno di coltura senza calcio, l'al-

tro di colture nelle quali alle piante il calcio veniva sottratto dall'intossicazione ossalica.

Poichè le stesse piante sono state precedentemente esperimentate in condizioni analoghe, ma con dosi notevoli di magnesio, potevo disporre di tre serie di esperienze. Cioè di colture ipermagnesiache, colture acalciche o ipocalciche e intossicazioni dall'acido ossalico. Cioè con modalità diverse, ma probabilmente, convergenti verso un'assenza di calcio nella cellula vivente.

Metodo. — Le tallofite sperimentate sono state coltivate in matracci contenenti la soluzione nutritizia Molisch priva di calcio e alla quale era aggiunto 2% di saccarosio; oppure la stessa soluzione con aggiunta di dosi crescenti di ossalato neutro di potassio, partendo dalla diluizione di 6‰.

Le piante superiori sono state coltivate in vaschette contenenti acqua distillata, oppure in questa addizionata di dosi crescenti di ossalato neutro di potassio, partendo dalla diluizione del 6 ‰.

Le piante prese in esame erano:

Penicillium glaucum Wehmer.
Alternaria tenuis Nees.
Botrytis cinerea Pers.
Coniosporium bambusae Sacc.
Mycoderma Aconiti Marcello.
Bacillus prodigiosus Ehrnbg.
Bacillus subtilis F. Cohn.
Sarcina aurantiaca Flügge.
Chlorella vulgaris Beyerinck.
Salvinia.
Lycopodium.
Lemna.
Myriophyllum.
Pontederia.
Elodea.

Tallofite coltivate in soluzioni nutritizie senza calcio, semplici o con aggiunta di ossalato di potassio al 6 ‰ (osservate dopo 4 giorni dal trapianto).

Penicillium glaucum. — Accrescimento rigoglioso, tutti i matracci sono coperti da un velo di colonie bianche, in alcune vi è inizio della sporificazione. I liquidi contenenti ossalato sono diventati bruni.

Alternaria tenuis. — Piccole coloniette bianche coprono tutte le superficî dei liquidi, in alcune si nota la sporificazione bruna al centro.

Botrytis cinerea. — Tutte le superficî dei liquidi sono coperte dal micelio del fungo in esame, però mentre nel matraccio « senza calcio » vi sono conidiofori molto alti, in quelli alle quali ho aggiunto l'ossalato di potassio i conidiofori sono molto bassi e la sporificazione meno abbondante.

Coniosporium bambusae. — Coloniette piccole abbondantissime in tutti i matracci, tutte con la sporificazione scura al centro.

Mycoderma Aconiti. — In tutti i matracci vi è sul fondo un abbondante deposito di fermenti, i liquidi sono torbidi ed hanno il caratteristico odore di fermentazione.

Bacillus prodigiosus. — I matracci contenenti la soluzione nutritizia senza calcio hanno i liquidi fortemente colorati in rosso, quelli contenenti l'ossalato hanno una colorazione più pallida, però anche in questi il bacterio si è moltiplicato normalmente.

Bacillus subtilis. — In tutti i matracci il bacillo si è moltiplicato ed ha formato anche alcuni lembi di velo superficiale.

Sarcina aurantiaca. — Tutti i liquidi sono torbidi, la *Sarcina* si è moltiplicata normalmente; i liquidi hanno anche una debole colorazione arancione.

Chlorella vulgaris. — In tutti i matracci si nota che il liquido nutritizio ha assunto una colorazione verdiccia, indice della moltiplicazione dell'alga in esame.

Tallofite coltivate in soluzioni nutritizie contenenti 1 %, 2 %, 5 % e 10 % di ossalato di K.

Tutte le colture sono state osservate 4 giorni dopo il trapianto.

Penicillium. — Nella soluzione contenente 1% di ossalato di potassio le colonie sono grandi, rigogliose, bianche, con inizio di sporificazione.

Nell'ossalato 2% le colonie superficiali sono più piccole delle precedenti, sul fondo vi è inoltre un velo sottile di micelio, sporificazione nulla. Nell'ossalato 5% coloniette minutissime quasi invisibili a occhio nudo. Nell'ossalato 10% nessun accrescimento.

Alternaria tenuis. — Nell'ossalato 1% velo di colonie grandi, alcune con la sporificazione al centro.

Nell'ossalato 2% coloniette più piccole e meno numerose che nella soluzione precedente.

Nell'ossalato 5% colonie superficiali minutissime.

Nell'ossalato 10% nessun accrescimento.

Botrytis cinerea. — Nell'ossalato 1% velo continuo di piccole colonie, conidiofori bassi con conidi.

Nell'ossalato 2% accrescimento come prima, però i conidiofori sono più piccoli e in minore numero.

Nell'ossalato 5% coloniette minutissime immerse, solo pochissime superficiali, conidiofori assenti.

Nell'ossalato 10% accrescimento nullo.

Coniosporium bambusae. — Coltivato nelle soluzioni contenenti le varie dosi di ossalato di potassio si comporta come l'*Altenaria.*

Mycoderma Aconiti. — Nell'ossalato 1% accrescimento molto rigoglioso, liquido torbido, latteo, deposito di fermenti sulla base del matraccio.

Nell'ossalato 2% il fermento si comporta come nel caso precedente.

Nell'ossalato 5% l'accrescimento è più stentato e nella soluzione contenente 10% di ossalato non vi è moltiplicazione del fermento.

Bacillus prodigiosus. — Nell'ossalato all'1% il colore del liquido è rosa carico, indice della grande moltiplicazione del batterio. Nell'ossalato 2% e 5% vi è moltiplicazione, però meno attiva che nel caso precedente. Nell'ossalato 10% il batterio non si sviluppa affatto.

Bacillus subtilis e *Sarcina aurantiaca.* — Si comportano come il *Bacillus prodigiosus.*

Chlorella vulgaris. — Si sviluppa soltanto nella soluzione contenente 1% di ossalato.

Si può concludere da questi esperimenti che tutte le tallofite sperimentate si sviluppano normalmente nelle soluzioni nutritizie prive di calcio. Esse si sviluppano anche in soluzioni nutritizie contenenti forti dosi di ossalato neutro di potassio, sopportano anche la concentrazione del 5% di questo sale. In soluzioni più concentrate stentano a crescere, forse per l'acidità che assume il liquido nutritizio.

Coltivazione di alcune piante superiori in acqua contenente ossalato di potassio al 6 $^{0}/_{00}$ e 3 $^{0}/_{00}$.

Già un giorno dopo l'inizio dell'esperimento le *Lemne* tenute in ossalato al 6‰ erano completamente imbrunite, il *Myriophyllum* aveva tutte le foglioline staccate, e queste non contenevano affatto clorofilla, anche la *Salvinia* aveva perduto il suo colore verde normale.

Coltivando le stesse piante in una soluzione di ossalato al 3‰, un giorno dopo il trapianto tutte le piantine erano scolorate; due giorni dopo ho osservato che:

le lemne erano giallo-brune, completamente prive di clorofilla, lo stesso per le foglie della *Vallisneria;* i pochi granuli rimasti erano completamente sbiaditi;

il *Myriophyllum* aveva assunto una colorazione bruna, i granuli bruni si erano localizzati intorno alle pareti, lasciando vuoto il lume cellulare;

il *Lycopodium* non era cresciuto affatto, aveva le foglioline appassite e le radici imbrunite, specialmente nei punti di ramificazione;

nella *Pontederia* il colore delle radici era passato da viola intenso a rosa pallido, il galleggiante non era più consistente e le foglie erano appassite nella loro estremità superiore.

Piante coltivate in soluzione di ossalato di potassio all' 1 °/₀₀.

Due giorni e mezzo dopo l'inizio degli esperimenti le *Lemne* sono completamente ingiallite.

Nel *Myriophyllum* la parte superiore della foglia è molto pallida, nella parte inferiore vi è un imbianchimento completo intorno ai nodi e alla base delle foglie. In queste zone le cellule sono quasi prive di clorofilla, solo alcuni cloroplasti sporadici si trovano lungo le pareti cellulari.

La *Vallisneria* ha molte cellule vuote di clorofilla, alcune hanno pochissimi cloroplasti lungo le pareti.

Nei giorni seguenti le foglie si disarticolavano mentre la clorofilla non era ancora completamente distrutta.

Piante coltivate in soluzione di ossalato di potassio al 1/2 °/₀.

Sei giorni dopo l'inizio dell'esperimento comincia la disarticolazione delle foglioline di *Myriophyllum*, le piantine sono inoltre cresciute molto meno dei controlli. Mentre i controlli si sono allungati di 2 cm., le piantine tenute nella soluzione di ossalato si sono allungate solo di 1/2 centimetro. Le *Elodee* sono molto pallide con nodi imbruniti e non sono cresciute affatto. Le *Lemne* sono molto gialle e non contengono quasi affatto clorofilla.

Piante coltivate in ossalato di potassio al 1/4 °/₀₀.

12 giorni dopo il trapianto in questa soluzione, le piantine presentano gli stessi segni di sofferenza descritti

nel caso precedente. Il *Myriophyllum* si è allungato di un solo centimetro e lo stesso è avvenuto per l'*Elodea*. Anche le *Lemne* sono cresciute, però hanno perduto il loro colore verde normale.

Piante coltivate in acqua distillata.

Tutte le piantine hanno l'aspetto normale. Il *Myriophyllum* si è allungato di 3 cm., le *Elodee* di 2 cm. e anche le *Lemne* si sono moltiplicate ed hanno l'aspetto normale. Lo stesso si osserva per la *Pontederia* e per la *Selaginella*.

Dagli esperimenti su descritti si può concludere che mentre le piante in esame crescono ancora normalmente in acqua distillata, soffrono se vengono coltivate anche in soluzioni molto diluite di ossalato neutro di potassio (1/4‰). In soluzioni di ossalato all'1‰ i segni di sofferenza si manifestano già dopo un giorno dall'inizio dell'esperimento e la morte avviene molto rapidamente.

È interessante notare che le manifestazioni di sofferenza sono le stesse osservate nelle piante coltivate in soluzioni contenenti solfato di magnesio all'1%. Si ha la disarticolazione delle foglioline di *Myriophyllum*, l'imbrunimento dei nodi delle *Elodee*, la perdita di turgore di tutte le piantine, il rapido ingiallimento delle *Lemne*. Inoltre tutte le piante coltivate in presenza di ossalato di potassio arrestano il loro accrescimento.

Semi di piselli coltivati in soluzioni a varia concentrazione di ossalato di potassio.

Semi germinati di pisello, con radichette di 25 mm. di lunghezza sono stati messi in tubi da saggio contenenti acqua distillata o soluzioni a varia concentrazione di ossalato di potassio da 1/2 ‰ fino a 5 ‰. Cinque giorni dopo il trapianto si sono avuti i risultati seguenti:

In acqua distillata. — Le radici hanno la lunghezza media di 80 mm., hanno molte radici secondarie e un fusticino di 40 mm. di lunghezza.

Ossalato 1/2‰. — La lunghezza delle radici raggiunge soltanto i 27 mm., si ha un accenno di radici secondarie, le radici stesse non hanno più l'aspetto normale, sono un po' imbrunite. Il fusticino è lungo 35 mm.

Ossalato 1‰. — Radicine di 25 mm. di lunghezza; non vi è nessun accenno di radici secondarie, le radici stesse sono imbrunite e non hanno la consistenza delle normali, sono più molli. Il fusto raggiunge la lunghezza di 25 mm.

Ossalato 2‰. — Anche in questa soluzione, come in quella precedente, non si ha nessun accrescimento delle radici; queste hanno l'aspetto molto anormale, non sembrano più vitali. Il fusticino è lungo 20 mm.

Ossalato 5‰. — I semi sono raggrinziti, non si ha alcun accrescimento nè delle radici, nè del fusticino.

Da questi esperimenti si può dedurre che, mentre in acqua distillata i semi germinanti di piselli crescono normalmente, soffrono se vengono coltivati in soluzioni contenenti ossalato neutro di potassio.

Mentre il fusticino si forma ancora nelle piantine coltivate in soluzioni di ossalato al 2‰, le radici soffrono già nella soluzione di ossalato all'1/2‰ ; in questo caso si allungano solo di pochissimo e non formano affatto radici secondarie. Nelle soluzioni un po' più concentrate le radici non crescono affatto, acquistano un colore bruno e diventano molli.

La soluzione di ossalato di potassio al 5‰ è letale per tutta la pianta.

Semi di ceci coltivati in soluzioni di ossalato di potassio.

Coltivando i semi germinanti di ceci in soluzioni a varia concentrazione di ossalato di potassio sono arrivata alle stesse conclusioni descritte nel caso precedente.

Le radici non crescono affatto, anche se messe in soluzioni di ossalato al 1/2‰, non si formano radici secondarie nemmeno nelle diluizioni più forti. Le radici sono sofferenti, imbruniscono, perdono il loro turgore, diventano molli e muoiono.

Ho osservato gli stessi sintomi di sofferenza anche nelle radicine tenute in soluzione di solfato di magnesio all'1%.

Anche Loew [10] ha osservato che semi germoglianti di avena o di ravanelli muoiono se sono messi per due giorni in una soluzione di ossalato al 5‰.

Le esperienze sopra riferite dimostrano la notevole azione tossica dell'ossalato di potassio sopra le piante, fatto del resto ben noto, e mettono in evidenza il differente comportamento che le piante superiori presentano rispetto alle inferiori riguardo all'intossicazione ossalica. Si direbbe che tra piante superiori e piante inferiori esista una differenza di struttura chimica in qualcuno degli organi essenziali che determina la così profondamente diversa sensibilità a tale veleno.

È pure da rilevare che il comportamento osservato si ripete esattamente per quanto riguarda l'intossicazione da magnesio, verso il quale le piante superiori manifestano una grande sensibilità mentre le inferiori sono affatto insensibili [2]. È da aggiungere che l'analogia si spinge fino ai reperti anatomo-patologici.

Le mie esperienze hanno messo in chiaro nell'una e nell'altra forma di intossicazione: la disarticolazione dei rami di *Myriophyllum*, l'imbrunimento dei nodi delle *Elodee*, la perdita di turgore delle piantine, l'imbrunimento delle radici dei semi germinati e la soppressione delle radici secondarie. Aso [11] ha osservato che rami giovani di *Quercus acuta* immersi per due giorni in una soluzione di ossalato di soda al 0,5% dimostrano una colorazione bruna della nervatura fogliare e poi appas-

siscono. Manifestazioni analoghe di intossicazione ho constatato in rami e foglie immerse in soluzioni di magnesio.

Io ritengo che le mie esperienze portino una nuova conferma alle osservazioni di Loew, il quale aveva già osservato la insensibilità di alcune piante inferiori alla intossicazione per acido ossalico o alla mancanza di calcio.

Si va delineando, dalla serie delle esperienze che in questo e nei precedenti miei lavori sono andata svolgendo, il quadro della diversa funzionalità dei due elementi calcio e magnesio.

Il magnesio sembra un elemento tra i più indispensabili alla vita del plasma vegetale qualunque esso sia, svolgendo una funzionalità probabilmente legata a quella respiratoria e non sostituibile dal calcio. Il calcio è capace a sua volta di svolgere alcune funzioni non sostituibili dal magnesio, tra le quali è certamente da enumerare quella inerente alla funzionalità della lamella mediana intercellulare. Le disarticolazioni che ho osservato nelle piante tenute in soluzioni di ossalato ne sono esempio evidente. Ma poichè le sostanze pectiche cellulari non sono soltanto quelle della lamella mediana, ma sono certamente costituenti del rimanente delle pareti cellulari, e talora, se non sempre, anche del plasma, è probabile che il calcio abbia non piccola parte nella funzionalità ancora tanto oscura dei composti pectici.

Il turbamento di queste funzionalità operato sia dal magnesio in eccesso sia dall'ossalato, potrebbe determinare le gravi azioni antagonistiche del calcio contro il magnesio, che il Loew ha da tempo così bene messo in evidenza.

È noto che il nucleo contiene anche dei sali di calcio, si potrebbe quindi ritenere che l'azione del magnesio o dell'acido ossalico possa appunto incidere su questa forma nucleare del calcio. L'ipotesi è certamente attraente, ma occorrerebbe, per ammetterla, una diversa struttura fondamentale nucleare tra i nuclei delle piante

inferiori e quelli delle piante superiori. Affermazione alla quale si potrà anche arrivare in seguito, ma che per ora nessun fatto permette di accogliere.

CONCLUSIONI.

Le ricerche mettono in evidenza la resistenza delle piante inferiori all'intossicazione ossalica, resistenza che manca invece completamente nelle piante superiori. Tale comportamento è perfettamente analogo a quello delle intossicazioni per eccesso di magnesio.

L'uno e l'altro veleno, è probabile che agiscano spostando composti di calcio dalle cellule viventi, da identificarsi probabilmente con composti pectici della lamella mediana e delle altre parti delle cellule.

Ringrazio il Chiar.mo Prof. Giuseppe Gola, Direttore del R. Istituto Botanico dell'Università di Padova, per i validi consigli prestatemi per questo mio ciclo di ricerche intrapreso sotto la sua direzione.

D. Rabinovitz Sereni.

R. Orto Botanico di Padova
maggio 1933-XI.

SUMMARY

The researches described bring to view the resistance of inferior plants to oxalic poisoning, resistence that fails completely in the superior plants.

This behaviour is analogous to the poisoning for excess of Mg.

Both the substances probably remove calcium compounds from the living cells.

BIBLIOGRAFIA.

1. Rabinovitz-Sereni D., *Osservazioni sulla tossicità del magnesio per le piante superiori.* « Boll. della Staz. di Pat. Veg. », n. 3, 346-366, 1933.

2. — *Sull'accrescimento di alcune tallofite in soluzioni contenenti fortissime dosi di magnesio.* « Boll. d. Staz. di Pat. Veg. », n. 3, 338-345, 1933.

3. Pfeffer W., *Physiologie Végétale*, I, p. 435, 1904.

4. Winogradsky S., *Ueber die Wirkung äussere Einflüsse auf die Entwicklung von* Mycoderma vini. « Bot. Centbl. », 1884, vol. XX, p. 165.

5. Hori S., *Haben die höheren Pilze kalk nötig.* « Flora », 101, 4, 447-448, 1910.

6. Weir, « Flora », 1911, pag. 87.

7. Molisch, Wien Akademie Ber., 1895.

8. Loew O., *Ueber die Giftwirkung von oxalsaüren Salzen und die physiologische Funktion des Calciums.* « Biochem. Zeitschrift », XXXVIII 3-4, p. 226, 1912.

9. Kufferath H., *La culture des algues.* « Revue algologique », Tome IV, n. 1-4, 1928.

10. Loew O., *Ueber die physiologischen Funktionen der Calcium-und Magnesium-salze im Pflanzenorganismus.* « Flora », 368-394, 1892.

11. Aso, « Bulletin College of Agricolture », Tokyo 7, 231. (Rif. nel lavoro del Loew).

L' " ASCOCHYTA HETEROMORPHA „ N. C. nella necrosi dell'oleandro e nell'inoculazione sperimentale

CONTENUTO.

I. — Introduzione.
II. — Manifestazione della malattia sull' oleandro.
a) Sui rami.
b) Su le foglie.
c) Sui fiori e i frutti.
III. — Il parassita.
1. *Morfologia.*
a) Micelio.
b) Forma picnidica.
c) Sclerozi.
d) Clamidospore.
2. *Posizione sistematica e sinonimia.*
3. *Isolamento e coltura.*
IV. — Inoculazione sperimentale.
1. *Riproduzione della malattia sull'Oleandro.*
a) Inoculazione con le spore.
b) Inoculazione col micelio.
2. *Infezioni artificiali su organi di piante diverse.*
V. — Condizioni favorevoli allo sviluppo dell'infezione.
VI. — Le fruttificazioni del fungo nelle diverse matrici.
VII. — Affinità e diffusione della specie.
VIII. — Conclusioni.
IX. — Summary.

I. — **Introduzione.**

Nel 1884 Schulzer e Saccardo [23] sotto il nome di *Phoma? heteromorpha* descrissero un micromicete sferioideo con la seguente diagnosi: *Perithecciis gregariis, subcutaneo-erumpentibus, globulosis, obtusis, 1/2 - 3/4 mill. diam.; intus pluriloculariibus* (?); *sporulis ellipsoideis vel suboblongis, utrinque rotundatis, 6-9 ⨯ 3-4, 2-guttatis, hyalinis; basidiis obsoletis. Hab. in ramis corticatis Nerii Oleandri. Totus habitus et sporulae Phomae, hinc loculi verisimiliter spurii et orti ex casuali nuclei sporigeni partitione.*

Il punto interrogativo posto alla denominazione generica sta a rivelarci il dubbio sulla posizione sistematica non definita da parte degli autori suddetti e conferisce a questa entità specifica l'incertezza che accompagna un gruppo ancora numeroso di specie conosciute come dubbie e indefinite. Così infatti è rimasta finora questa specie, la quale non mi resulta che sia stata osservata e riportata in seguito da altri autori col nome originario.

Per l'assenza degli sporofori, per la guttulatura delle spore e per avere talora i picnidi internamente divisi all'inizio in più d'un loculo, questa sferioidea corrisponde a un *Ascochyta* da me trovata a produrre recentemente una grave infezione sull'Oleandro, e sotto la nuova denominazione di *Ascochyta heteromorpha* (Sch. et Sacc.) n. c., la riporto. La settatura delle spore è certamente sfuggita a Schulzer e Saccardo, come è avvenuto per altre specie di *Ascochyta* a diversi Autori, quando essa compare tardi e generalmente su un numero esiguo di picnospore nelle fruttificazioni che si formano in natura sugli organi infettati. Gli studi recenti hanno ripetutamente provato che questo carattere non può essere sicuro in molte specie di *Phomaceae* determinate con l'osservazione microscopica sul materiale raccolto, senza seguire lo sviluppo delle fruttificazioni nei vari ospiti o nelle colture artificiali.

Da alcuni anni, nella stagione autunnale, osservo lo sviluppo intenso di questo fungo in un cespuglio di oleandro del Campo sperimentale della R. Stazione di Patologia vegetale di Roma.

La piantagione per quanto collocata su un terreno fertile e provvista di un sistema radicale sano e vigoroso, non può raggiungere quello sviluppo che dovrebbe normalmente presentare se non avesse a soffrire la soppressione dei getti, emessi durante l'anno, nel periodo autunnale. Con i freddi invernali lo sviluppo della malattia subisce un lieve arresto, ma poi riprende subito a manifestarsi e continua anche durante l'estate. All'infuori dell'infezione autunnale però, le altre sono sporadiche e

colpiscono solo qualche germoglio o alcune foglie, a meno che non abbiano a verificarsi condizioni climateriche tali da far permanere attorno alle piante un'aria eccessivamente umida che favorisce grandemente il progredire della malattia.

Le ricerche condotte sulle piantagioni di oleandro dei viali e dei giardini di Roma, mi hanno portato a riscontrare la medesima malattia quasi ovunque. Nella gran parte delle piante ho trovato almeno una foglia o un ramo con la stessa infezione, che però non ho mai riscontrato con la medesima intensità come nella pianta del campo sperimentale della Stazione di Patologia Vegetale, trattandosi di un terreno molto basso nel quale possono facilmente verificarsi le condizioni migliori di sviluppo del parassita.

II. — **Manifestazione della malattia sull'oleandro.**

La malattia si manifesta in tutti gli organi giovani della parte aerea della pianta, e attacca quindi i germogli, i rami dell'annata, le foglie, i fiori e i frutti. Non si osservano infezioni nei rami più vecchi di due, tre e più anni.

a) Sui rami (germogli). — Le infezioni non si iniziano mai nell'internodio, ma sempre all'ascella delle foglie ove si forma una piccola area necrosata attorno al picciolo, la quale estendendosi finisce per interessare tutto il nodo ed i piccioli delle tre foglie che lo contornano. La necrosi progredisce sempre più verso l'internodio e le foglie superiori, ma il micelio rimane localizzato a una zona limitata del ramo e nella parte inferiore della nervatura mediana della foglia, mentre le tossine del fungo, le quali si diffondono lungo la nervatura che annerisce, arrivano talora a necrotizzare l'apice della foglia ove non potendo essere espulse vengono ad accumularsi (Tav. XVI).

Nel ramo le tossine percorrono pure i fasci e spesso interi internodi e foglie sono necrotizzati e avvizziti senza l'invasione del micelio localizzato nella parte superiore (Tav. XII, XIII e XIV). Attorno al punto d'infezione i tessuti si presentano zonati a macchie avellanee o fuliginee più o meno chiare, mentre tutto il resto del ramo, non invaso dal micelio ma dalle sole tossine, è castaneo e badio.

b) Sulle foglie. — Nelle foglie si hanno diverse forme di infezione: essa può essere peziolare, nervale, apicale e marginale.

Infezione peziolare. — È quella che inizia all'ascella della foglia ed è la più frequente; la necrosi risale lungo la nervatura mediana fino a interessare buona parte del lembo, che diventa biancastro nel mezzo e castaneo o badio alla periferia. La parte superiore del lembo e spesso anche una zona marginale rimane verde, ma qualunque sia l'estensione dell'infezione, la parte superiore della nervatura mediana è imbrunita. Talora non si osserva nemmeno l'imbrunimento esterno della nervatura nella parte mediana, ma se si sezionano le porzioni delle nervature apparentemente integre, si osservano delle zone di tessuto vascolare imbrunito nell'interno (Tavola XIII, fig. 2).

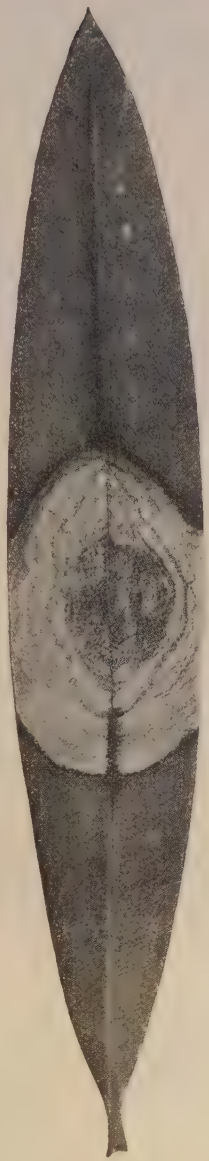


Fig. 1. — Foglia di *Nerium Oleander* con infezione nervale. (Fot. dell'A., gr. nat.).

Infezione nervale. — Ha inizio in un punto qualunque della nervatura mediana; per lo più nella porzione centrale e si estende al lembo lateralmente e lungo la nervatura tanto verso l'apice come verso la base della foglia, in modo che una buona zona mediana del lembo viene a essere infettata (Fig. 1). Dal punto di penetrazione del parassita il cammino dell'infezione è sempre più intenso verso l'apice, che spesso raggiunge, determinando il seccume di una buona parte del lembo. La parte malata è leggermente zonata, grigia avellanea e contornata spesso da una zona scura che si estende maggiormente lungo la nervatura mediana. La macchia si sviluppa sempre più in lunghezza che in larghezza e talora viene a interessare una buona porzione della parte mediana della foglia senza raggiungere i margini del lembo.

Fig. 2. — Foglia di *Nerium Oleander* con infezione marginale. (Fot. dell'A., gr. nat.).

Infezioni marginali e apicali. — Sono piuttosto rare. Le macchie si estendono gradatamente a zone concentriche fino a raggiungere la nervatura e anche a oltrepassarla; generalmente però non arrivano a interessare la parte corrispondente dell'altro margine (Fig. 2). Quando l'infezione marginale avviene verso la punta, l'estremità della foglia dissecca per un buon tratto e la macchia progredisce verso la base, estendendosi spesso a un terzo, meno frequentemente alla metà del lembo che talora sorpassano.

I tessuti che circondano le zone infette nelle foglie sono spesso imbruniti talora per una zona di alcuni millimetri. Il micelio del fungo si riscontra in quasi tutta l'estensione della macchia.

c) Sui fiori e i frutti. — L'infezione, quando si verifica, principia a manifestarsi generalmente nei peduncoli. Nei frutti inizia quasi sempre alla base, oppure alla punta o lungo la scanalatura mediana.

Le macchie dapprima sono color castaneo scuro o quasi nere e sono allungate longitudinalmente; i tessuti necrosati sono leggermente depressi.

III. — **Il parassita.**

Il micelio del fungo non si trova mai a contatto con le cellule vive della pianta ospite dopo avvenuta l'infezione, ma fra queste e le ife c'è sempre una zona più o meno estesa di tessuto necrotico, che può essere di qualche millimetro come di alcuni centimetri e nei germogli e nelle costole delle foglie anche di qualche decimetro. Tutto questo tessuto morto non è alterato nella sua struttura e nel suo aspetto esterno all'infuori che nel colore; esso presenta una semplice necrosi, nel vero significato che si dà a tale parola in Patologia con la quale io indico in questo caso non solo uno dei sintomi più caratteristici ma la stessa malattia prodotta sull'oleandro dall'*Ascochyta heteromorpha*.

Il micelio del parassita vive come un saprofita nei tessuti uccisi dalle sue tossine, che disorganizza e sui quali sviluppa i suoi organi fruttiferi.

Nella parte centrale delle macchie tanto dei rami come delle foglie compaiono dei puntini leggermente rilevati, del medesimo colore dei tessuti matricali o appena più scuri fintanto che sono ricoperti dall'epidermide, sparsi, relativamente radi. Nelle foglie sono presenti o nella pagina superiore o in quella inferiore; talora in ambedue le pagine. Tali puntini corrispondono ai corpi picnidici del parassita, che costituiscono la sporificazione finora conosciuta della specie e che abbondantemente si rinviene in natura. In condizioni speciali il fungo sviluppa organi vegetativi di conservazione: sclerozi e clamidospore.

Non mi è stato possibile osservare finora nei mezzi naturali e artificiali, la forma ascofora.

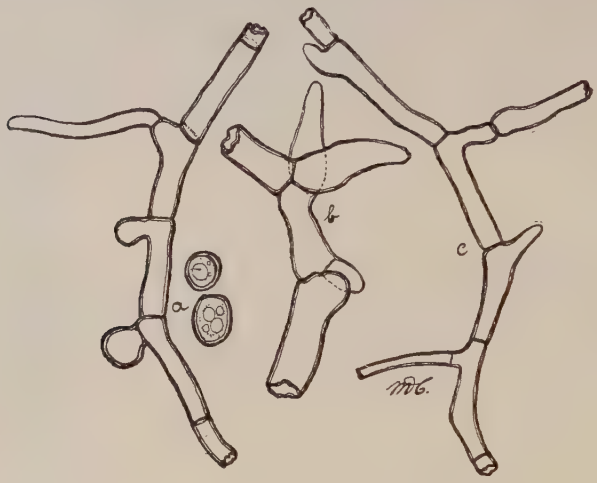


Fig. 3. — Porzioni di ife miceliche su colture di frutti di fico in tubi con clamidospore (*a*) e con appendici a sperone (*b* e *c*). (Camera lucida Abbe A.). × 600.

1. Morfologia.

a) Micelio. — Il micelio risulta di ife di 3,50-9 μ di diametro, le quali talvolta arrivano a presentare uno spessore sensibilmente superiore. Le ife più grandi sono frequentemente settate, talora torulose e sono provviste di ramificazioni laterali spesso quasi normali all'ifa principale.

Il colore del micelio va da ialino a olivaceo; qualche volta è anche umbrino o castaneo; in massa come nelle colture, ha un colore grigiastro più o meno intenso.

Lungo le ife si formano sovente degli ingrossamenti globosi o piriformi presso i setti, che talora arrivano a differenziarsi in clamidospore. Il più delle volte però anzichè aversi un regolare ingrossamento presso il setto, si produce un rigonfiamento laterale che di frequente assume la forma di uno sperone. Queste appendici sono

isolate, alternate, oppure opposte o incrociate a due a due e si formano in seguito ad accumulo di protoplasma (Fig. 3). Spesso l'appendice si arrotonda, assume una forma globosa, si separa con un setto e si riveste di una parete spessa, dando luogo alla formazione di clamidospore rotonde o leggermente ellissoidali, liscie di diametro uguale o di poco superiore a quello delle ife scure che le portano. Tali clamidospore si riscontrano anche nei tessuti alterati dell'oleandro.

Nel micelio di questo fungo ho notato con una certa frequenza lo sviluppo di ife nell'interno di alcuni rami micelici.

Queste ife endogene sono generalmente di diametro piccolo, circa un terzo inferiore a quello delle ife che le portano (Fig. 4). Si formano di preferenza nelle ife periferiche della colonia micelica, che si sviluppano su la parete del tubo di coltura e qualche volta anche su le ife aeree del micelio che si produce su gli organi infetti posti in ambiente piuttosto umido, nel quale l'umidità dell'aria non è però costante.

La loro comparsa è in relazione con le variazioni di turgore delle ife: se dopo uno sviluppo vigoroso del micelio, l'accrescimento si arresta, il protoplasma si plasmolizza e in molte cellule presto scompare, lasciando l'ifa in gran parte vuota.

In qualche cellula dell'ifa è però avvenuto il concentramento del protoplasma come a formare un *cellariolo* (9), il quale si è rivestito di una sottilissima parete interna; al sopraggiungere di una nuova variazione di turgore favorevole per una maggiore concentrazione di protoplasma nella parte inferiore dell'ifa o per il ritorno di un certo grado di umidità nell'ambiente di sviluppo del micelio, il protoplasma concentrato in qualche cellula germina, sviluppando una sottile ifa che attraversa il setto che la separa dalla cellula contigua vuota e si sviluppa nell'interno dell'ifa madre, settandosi e talora anche ramificandosi e anastomizzando-

si (Fig. 4). L'ifa interna può aprirsi un varco attraverso a la parete dell'ifa madre e accrescersi all'esterno, dando

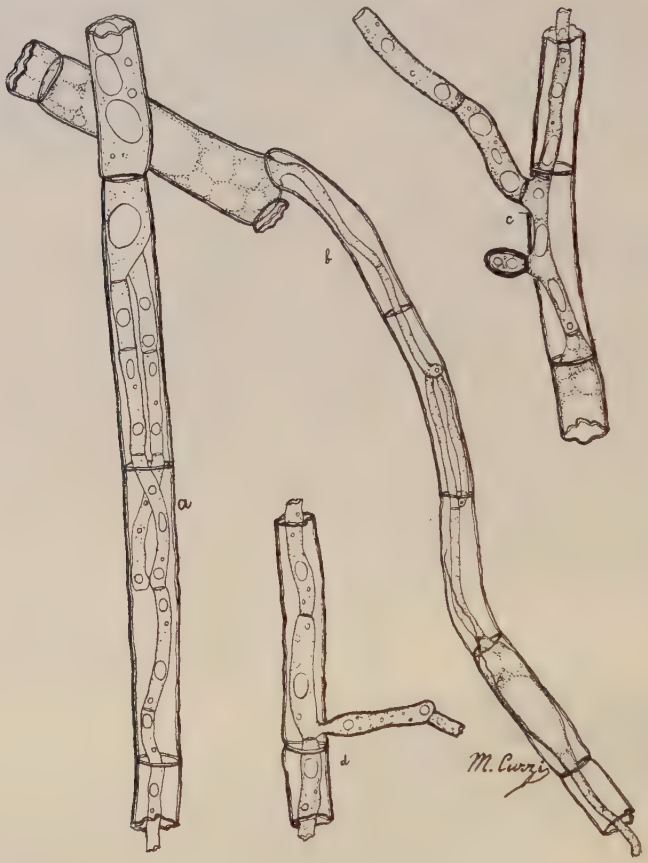


Fig. 4. — Ife endogene del micelio su la parete dei tubi di coltura su estratto di frutti di fico (*a-b*) e su germogli di oleandro sterilizzati all'autoclave (*d-c*). (Camera lucida Abbe A.). × 610.

luogo a ramificazioni laterali le quali sono sempre più grandi e fornite di parete più spessa della porzione endogena corrispondente.

b) Forma picnidica. — I picnidi sono più o meno immersi. Nelle infezioni naturali delle foglie e dei rami sono

completamente immersi; nei rami e nei frutti messi in camera umida si osservano anche picnidi completamente superficiali, i quali compaiono pure su organi vari di piante assai diverse infettati artificialmente.

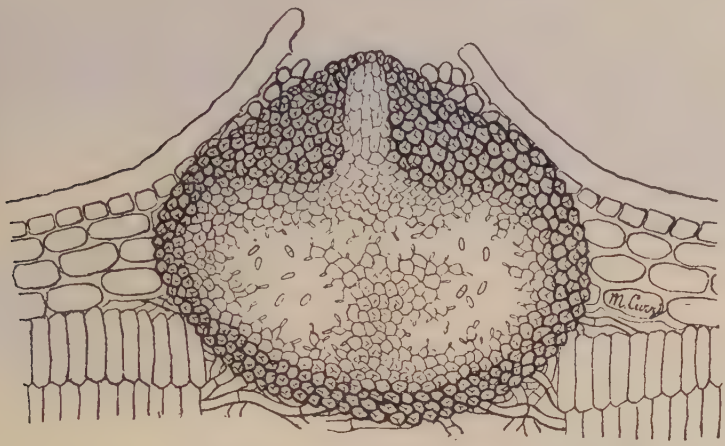


Fig. 5. — Picnidio nella pagina superiore della foglia di *Nerium Oleander*. (Camera lucida Abbe A.). × 380.

In sezione si presentano globosi o ellissoidali con il contesto distintamente parenchimatico color dattero alla periferia per due o quattro strati di pseudo-cellule, ialino con pseudo-cellule quadrangolari o poliedriche all'interno. La sporificazione si inizia con l'autolisi di alcune cellule centrali e poi da le cellule interne della cavità incomincia a prodursi le spore per gemmazione. I picnidi sono sprovvisti di veri sporofori; talora si producono delle cellule allungate verso l'interno, irregolari, ma riguardano formazioni rare e anormali. Usualmente nel picnidio immaturo, si osservano più di una cavità limitate da gruppi di cellule poliedriche con gemmazioni, generalmente una per cellula, che debbono evolversi in spore (Fig. 5). Quando il picnidio è maturo tutta la parte centrale è scomparsa e ripiena di spore convolute da una sostanza mucillaginosa derivata dalla dissoluzione

delle pareti cellulari; la superficie interna del picnidio rimane sempre dentritica (Fig. 6).

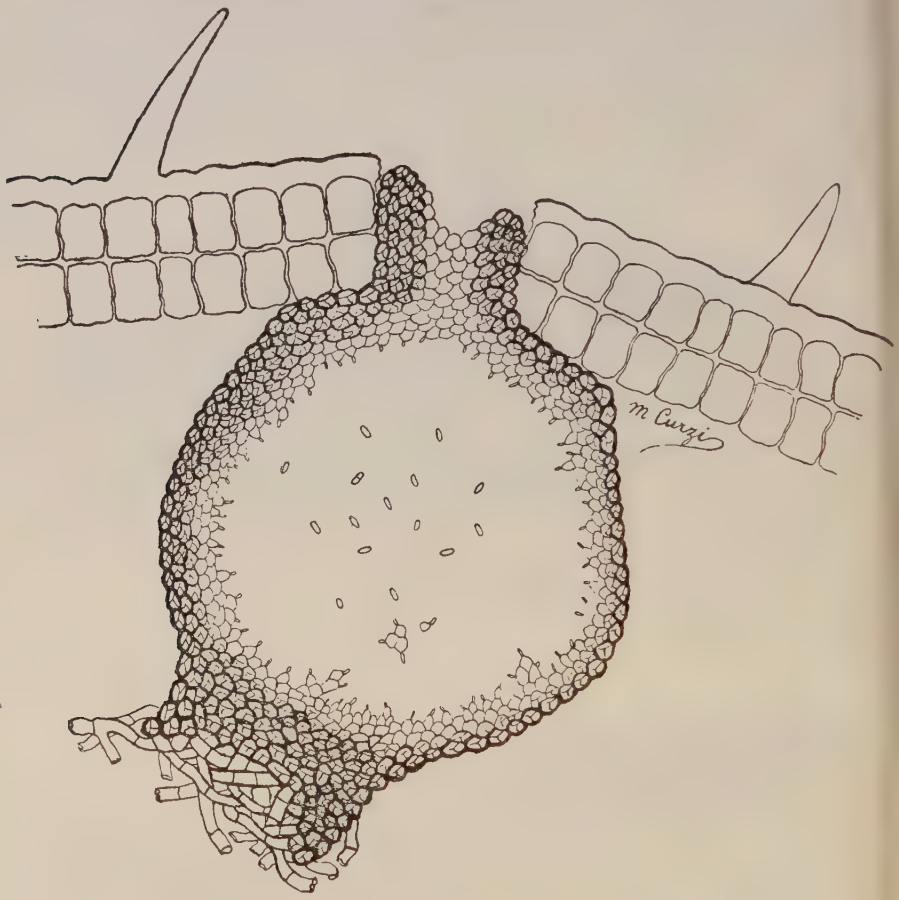


Fig. 6. — Picnidio su ramo di *Nerium Oleander*.
(Camera lucida Abbe A.). × 380.

Generalmente i picnidi sono fuligineo chiari, alutacei o anche più pallidi nella parte inferiore fino all'ocraceo, specialmente nelle foglie; sono più scuri presso l'ostiolo. Nelle foglie e particolarmente nei piccioli la parte superiore del picnidio ha talora uno sviluppo esagerato in modo che la cavità picnidiale viene a essere sormontata

da un tessuto pseudoparenchimatoso spesso, dovuto all'eccessivo sviluppo della parete per erompere e vincere la resistenza opposta dall'epidermide dell'ospite, quasi come è stato raffigurato da Cavara [5] nei picnidi di *Coniothyrium Diplodiella* (Speg.) Sacc. in sviluppo su gli acini d'uva.

Le dimensioni sono variabilissime. Nelle infezioni naturali dei rami e degli altri organi sono generalmente globosi e misurano 110 - 200 μ di diametro. Talora però le dimensioni sono superiori, e nelle foglie e nei frutti posti in camera umida si osservano di frequente picnidi completamente immersi, schiacciati, ellissoidali; che misurano 280-400 × 200-270 μ. I picnidi grandi sono sempre più regolari nella forma ed ellissoidali anzichè globosi come quelli di piccole dimensioni.

Le spore come abbiamo visto, si originano per gemmazione dalle cellule globose o poliedriche della parte interna del picnidio. Sono dapprima ovali o leggermente piriformi, appena più ristrette in basso, poscia sono ellissoidali con gli estremi arrotondati, distintamente biguttulate; in seguito si allungano e assumono una forma allungata più o meno regolare, e infine si settano nel mezzo, in modo che a maturità sono ialine e unisettate.

La settazione non è sempre visibile in una grande quantità di spore; anzi spesso e specialmente quando la sporificazione è affrettata e abbondante, le spore sono quasi tutte continue e soltanto alcune arrivano a settarsi; così in camera umida ove i picnidi sono più grandi e la sporificazione intensa, la percentuale delle spore settate è bassissima. In un'osservazione eseguita sulle fruttificazioni formatesi nei frutti lasciati sulle piante e su quelle formatesi nei frutti infetti posti in camera umida, ho ottenuto rispettivamente il 60% di spore settate nel primo caso e solo il 3% nel secondo (Tabella III).

Non ho mai osservato in questo fungo picnospore con più di un setto trasversale come talora si ha nell'*Asco-*

chyta Pisi Lib. e nell' *Ascochyta hortorum* (Speg.) Sm. [19] [24].

La guttulatura è quasi sempre ben evidente e le guttule sembrano riguardare i due nuclei della cellula; nelle spore settate le guttule diventano spesso quattro, due per cellula, ma sono meno appariscenti che nelle spore continue.

Fig. 7. — Picnidio su frutto di *Nerium Oleander* mantenuto in ambiente eccessivamente umido. (Camera lucida Abbe A.). × 170.

Le dimensioni delle spore oscillano negli estremi di 4-10 × 1,80-3,50 μ, ma usualmente esse sono 5-7,50 × 2,25-2,75 μ. Se però consideriamo soltanto le spore mature e quindi quelle settate, le medie delle dimensioni sono leggermente superiori, e cioè: 6,50-8 × 2,5-3,25 μ.

c) Sclerozi. — La forma scleroziale l'ho ottenuta soltanto nell'interno di alcuni spicchi di aglio inoculati col micelio delle colture pure del fungo. Gli sclerozi sono neri, duri, globosi o allungati, ma sempre di forma irregolare; misurano 0,7-2 mm. di diam.; sono rivestiti di alcuni strati di cellule scure ed hanno tutta la parte interna ialina costituita di cellule relativamente grandi ben provviste di guttule oleose; la struttura del pseudo parenchima è meno compatta nel mezzo ove si distingue l'intreccio micelico, il quale non è ben distinguibile invece alla periferia (Fig. 8). Talora presentano nell'interno

delle cavità irregolari dovute al collasso dell'intreccio micelico il quale è piuttosto rado.

Questi sclerozi non sono stati riscontrati in altri substrati e non mi risulta che siano stati descritti in altre specie simili di micromiceti.

Fig. 8. — Porzione periferica di uno sclerozio. (Camera lucida Abbe A.). × 830.

d) Clamidospore. — Sono intercalati o terminali, unicellulari o bicellulari, di forma e di dimensioni variabilissime; per lo più sono globose o un po' allungate ed hanno un diametro o leggermente superiore a quello delle ife che le portano o due, quattro volte questo. La loro parete è sempre doppia, spessa, liscia o appena ondulata, di colore castaneo od olivaceo più o meno intenso.

Le clamidospore non si osservano con tanta frequenza. Nelle colture artificiali il micelio è usualmente quasi sprovvisto di clamidospore mentre è sempre ricco di ife di riserva (ificellarioli) [9]. In alcuni substrati esse compaiono però in numero discreto e possono raggiungere delle dimensioni relativamente grandi; nei frutti maturi di *Diospyros Kaki,* lo sviluppo del fungo è lento e limitato, e la formazione delle clamidospore è abbondante sulle ife torulose del micelio aereo grigio olivaceo che erompe densamente dalle screpolature dell'epidermide (Fig. 9).

2. Posizione sistematica e sinonimia.

Senza alcun dubbio questo parassita dell'oleandro rientra nel genere *Ascochyta* Lib. ed ha molte affinità con altre specie simili parassite delle piante coltivate [14, 16, 17, 19, 20, 24, 25].

La sporificazione istogena è identica a quella del genere *Diploplenodomus* Died. [12, 13] e per essa il fungo dovrebbe rientrare in quest'ultimo genere, ma tale maniera di sporificare è comune anche all'*Ascochyta hortorum* (Speg.) Sm., che ho isolato dal *Solanum Melongena* e che ho seguito nelle colture parallele alla presente e ad altre specie tipiche del genere.

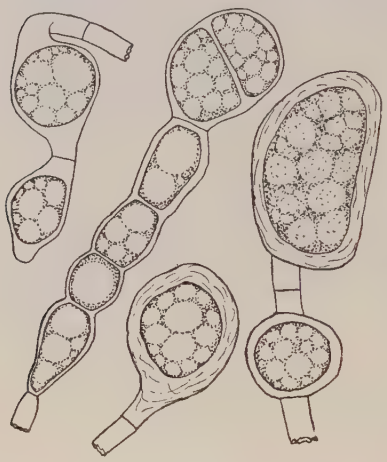


Fig. 9. — Clamidospore su frutti di *Diospyros Kaki* (Camera lucida Abbe A.). × 600.

Le mie osservazioni mi portano a constatare che non esiste una sostanziale differenza fra i generi *Ascochyta* e *Diploplenodomus*. La struttura pseudoparenchimatica del primo e quella scleroziale del secondo stabilite da Diedicke [12, 13], non costituiscono una differenziazione costante; nella medesima specie di *Ascochyta* si possono riscontrare l'una e l'altra struttura a seconda del substrato matricale come ho io osservato in questa specie sull'oleandro e sugli ospiti artificiali. L'unica diversità ammessa da Clements e Shear [6] è che mentre il primo sarebbe maculicolo il secondo invece non lo sarebbe; ma se una specie di *Diploplenodomus* dovesse essere parassita anch'esso diventerebbe quasi certamente maculicolo. D'altro lato se osserviamo i rami secchi di oleandro parassitizzati l'anno precedente dall'*Ascochyta*, non siamo più in grado di rintracciare le macchie; spesso poi l'epidermide è lacerata e distrutta e i picnidi appaiono più scuri, ricoperti dall'epidermide, oppure anche nudi al disopra del legno, e in questo caso, anche il più accorto e abile sistematico analitico, riporterebbe il fungo al ge-

nere *Diplodiplenodomus*, per seguire le chiavi analitiche oggi esistenti [6].

L'espressione di *maculicola e non maculicola*, che il più delle volte sta a indicare la presenza o l'assenza dell'azione parassitaria nei funghi, non può servire per la distinzione dei generi. Più importante è invece per me la morfologia della sporificazione. Con uno studio esteso a un gran numero di specie dovrebbe stabilirsi se la sporificazione nel genere *Ascochyta* avviene generalmente nel modo come è stato da me riscontrato, o se invece tale maniera di sporificare è limitata ad alcune specie mentre le altre avrebbero la sporificazione a sporofori distinti, ben differenziati dalle cellule interne del contesto del picnidio. Questa ultima condizione non si ha nelle specie tipiche del genere di Libert e credo perciò che esso abbia nella stragrande maggioranza delle specie il primo tipo di produzione delle spore; in tal caso il genere *Diplodiplenodomus* non viene ad essere che un sinonimo di *Ascochyta* e dovrebbe perciò essere annullato (1).

Delle specie di *Ascochyta* riportate sull'oleandro non risulta che l'*A. Oleandri* Sacc. et Speg.; ma le spore riportate per questa sarebbero fusoidee oblunghe e avrebbero le dimensioni di 11-15 × 2-2,5 μ, cioè una lunghezza tale che non ho mai riscontrata nelle spore della specie da me isolata nelle diverse condizioni naturali e artificiali. Ho cercato allora di esaminare l'essiccato originale conservato nella *Micoteca Saccardiana* dell'Isti-

(1) Le poche specie oggi comprese ancora nel genere *Ascochyta* con sporofori semplici e distinti, debbono essere riportate nel genere *Diplodina* West. senza riguardo del substrato, come è stabilito nelle chiavi analitiche di Clements e Shear [6]. Così l'*Ascochyta corticola* Mc Alp. [21] [22] parassita dei *Citrus*, che secondo Brien [3] ha sporofori semplici, continui, cilindrici, 12-14 × 3-3,5 μ, deve essere chiamata *Diplodina corticola* (Mc Alp.) n. c.; mentre la specie posteriore descritta nel 1903 su *Theobroma Cacao* sotto questa denominazione [2], dovendo cambiare il nome specifico, la dedico all'autore che l'ha raccolta e la chiamo *Diplodina Strunkii* n. n. (= *Diplodina corticola* Appel et Strunk).

tuto Botanico della R. Università di Padova, che mi è stato inviato dal direttore di quell'Istituto Prof. Giuseppe Gola; ma le uniche foglie esistenti non avevano alcun aspetto delle infezioni prodotte da questa *Ascochyta;* per giunta poi tanto le macchie, quanto i picnidi trovati corrispondevano alla *Septoria oleandrina* Sacc. (Fig. 10).

Fig. 10. — Foglia di *Nerium Oleander* dalla *Micoteca Saccardiana.* (Fot. dell'Aut., grand. nat.).

Quando le spore di questa *Septoria* sono immature appaiono fusiformi, leggermente rigonfie nel mezzo ove spesso presentano un setto; in questo stadio di sviluppo le dimensioni corrispondono pressapoco a quelle riportate nella diagnosi dell' *Ascochyta Oleandri*; ma per quanto mi consta da dirette osservazioni sul materiale saccardiano, non sono portato ad ammettere che il grande micologo abbia commesso un grossolano errore di determinazione generica e per questo considero dubbia e non sinonimo della *Septoria oleandrina* l'*Ascochyta Oleandri*, la quale poteva anche essere associata nello stesso materiale e nelle stesse macchie alla *Septoria* (1). Comunque sia però la specie da me studiata non ha nulla di comune con l'*Ascochyta Oleandri,* specie per le spore mai fusoidee e mai della lunghezza di 11-15 μ.

Questa *Ascochyta* però è troppo comune ed è l'agente di una delle malattie più gravi dell'oleandro: appare per-

(1) Nelle macchie prodotte sulle foglie di *Nerium* dalla *Septoria oleandrina,* ho riscontrato nel 1924 [7] una infezione secondaria prodotta da una *Ascochyta* a spore leggermente clorine prossime nelle dimensioni a quelle dell'*Ascochyta Oleandri.*

ciò impossibile che essa non sia stata riscontrata e riportata sotto altri nomi, oltre quello di *Phoma? heteromorpha*. Tra le specie di *Phomaceae* conosciute nell'oleandro ce ne sono due ialospore che potrebbero confondersi con la specie da determinare; e cioè: la *Phyllosticta neriicola* Brun. e la *Phoma oleandrina* Delacr.

La diagnosi data per la prima è così incompleta da rendere impossibile un preciso confronto [4]. Il Saccardo [22] la riporta semplicemente con le parole: « *Maculae magnae, pallide olivaceae; perithecia nigra, prominula; sporulae* 8-10 × 3 μ, *hyalinae* ». Questa descrizione se ben corrisponde ai caratteri tipici della *Phyllosticta neriicola*, non possono a rigore confrontarsi con quelli dell'*Ascochyta heteromorpha;* nella grandezza delle spore le cifre si avvicinano, ma soltanto le picnospore completamente sviluppate di questa arrivano ad avere le dimensioni minime delle picnospore di quella, mentre è chiaro che se il fungo fosse stato riportato in un genere a spore ialine non settate senza errore di osservazione, le dimensioni dovrebbero essere inferiori, come realmente sono quelle della gran parte delle spore non settate del fungo. Se però non è sicuro che la descrizione originale della *Phyllosticta* corrisponda a quella dell'*Ascochyta* è però certo che altri autori hanno riportato sotto il primo nome le lesioni e le fruttificazioni prodotte su le foglie dell'oleandro dalla seconda.

La *Phoma oleandrina* studiata da Delacroix [11] nel 1905, è la specie che corrisponde nella gran parte dei caratteri e specialmente in quelli parassitari, all'*Ascochyta*. Le differenze sono minime e riguardano le interpretazioni non tanto esatte dell'Autore, le quali sono per lo più dovute alla limitazione delle osservazioni eseguite soltanto sul materiale raccolto in natura.

Osservando le fruttificazioni del parassita su i germogli infetti appena raccolti dalla pianta, i picnidi sono rari e quei pochi esistenti sono immaturi, con spore piccole e continue; raramente si osserva un numero di-

screto di spore settate. Però tali spore sono generalmente fornite di due ben distinte guttule, rifrangenti, mentre Delacroix le riporta non guttulate o granulose. Questo contrasto mi ha lasciato un po' titubante sull'identità dei due funghi; ma data la corrispondenza degli altri caratteri, ciò doveva essere dovuto al fatto che l'A. francese abbia osservato il fungo in condizioni tali che la guttulatura non è manifesta, come realmente si ha talora in questa e in altre specie a spore distintamente guttulate.

Il materiale originale che ho richiesto al Prof. G. Arnaud della *Station Centrale de Pathologie Végétale* di Versailles, non esiste; mi è stato però inviato quello di R. Maublanc raccolto ad Angers nel 1905, che venne determinato per *Phoma oleandrina* fin da allora. quando questo micologo era collaboratore di Delacroix. Tale essiccato corrisponde perfettamente all'*Ascochyta heteromorpha;* anche le spore sono ben sviluppate e parecchie di esse settate, maturate forse dopo che le foglie sono state raccolte (tab. IV). Non può esserci diversità fra l' essiccato di Maublanc e quello di Delacroix, riguardante una specie determinata nello stesso laboratorio sotto la direzione del medesimo autore, e anche per questo considero senz'altro la *Phoma oleandrina* come un sinonimo dell'*Ascochyta heteromorpha.*

Fig. 11. — Picnospore in germinazione nell'acqua di fonte. (Camera lucida Abbe. A. × 160).

Nella descrizione, Delacroix non fa alcun cenno della

settazione delle spore, ma nel disegno sulle spore germinanti, raffigura alcune di queste settate.

La *Phyllosticta glaucispora* Delacr., descritta nel 1893 [10], potrebbe pure rientrare in questa specie di *Ascochyta*. Allescher [1] l'ha ritenuta non diversa dalla *Phyllosticta neriicola* e se ciò dovesse corrispondere al vero anch'essa dovrebbe essere riportata in dubbia sinonimia con la specie che sto studiando, ma io non ho mai riscontrato in tutti i picnidi osservati sulle foglie malate di oleandro, le spore « *hyalinis vel glaucescentibus* », come sono date nella diagnosi della *Phyllosticta* di Delacroix. Ritengo per questo molto incerta l'identità fra *Phyllosticta neriicola* e *Phyllosticta glaucispora* e fra questa e *Ascochyta heteromorpha*.

Soltanto la *Phoma oleandrina* è un sicuro sinonimo dell'*Ascochyta heteromorpha* e perciò la sinonimia della specie dovrebbe per ora stabilirsi come segue:

ASCOCHYTA HETEROMORPHA (Sch. et Sacc.) n. c.
Phoma? heteromorpha Sch. et Sacc., 1884.
Phoma oleandrina Delacr., 1905.

3. Isolamento e coltura.

Ho isolato il parassita da organi assai diversi di oleandro di provenienza differente, in tutte e quattro le stagioni. La gran parte delle colture si corrispondono perfettamente. In qualche caso ho avuto degli stipiti con minore micelio aereo, con un accrescimento vegetativo più lento e con una inferiore azione parassitaria; la morfologia delle fruttificazioni era però sostanzialmente sempre la medesima e perciò queste colture debbono riguardare stipiti vegetativi distinti della stessa specie, alcuni dei quali li ho infatti separati dalle variazioni settoriali delle colture dello stipite più comune o tipico del fungo.

Le picnospore poste in acqua semplice o zuccherata o nei liquidi nutritivi germinano facilmente, emettendo un tubo micelico da una sola parte; raramente si osservano le germinazioni da entrambi gli estremi della spora.

Nelle condizioni più frequenti solo una cellula germina nelle spore settate, mentre l'altra resta intatta (Fig. 11). Alcune spore giovani si settano nel mezzo prima di germinare.

Fig. 12. — Anastomosi del micelio in sviluppo dalle spore in goccia pendente in acqua glucosata al 2 %. (Camera lucida Abbe A.). × 450.

Su un numero grandissimo di substrati naturali e artificiali il fungo si sviluppa sempre, dando luogo a colonie miceliche lussureggianti ad accrescimento piuttosto rapido; il micelio strisciante è prima ialino e poi spesso olivaceo scuro e risulta formato da ife grosse con numerose ramificazioni di ife di diametro inferiore; il micelio aereo è abbondante e costituisce quasi sempre un feltro

cotonoso di colore variabile dal grigio chiaro al grigio scuro. L'accrescimento è migliore sulle porzioni steriliz-

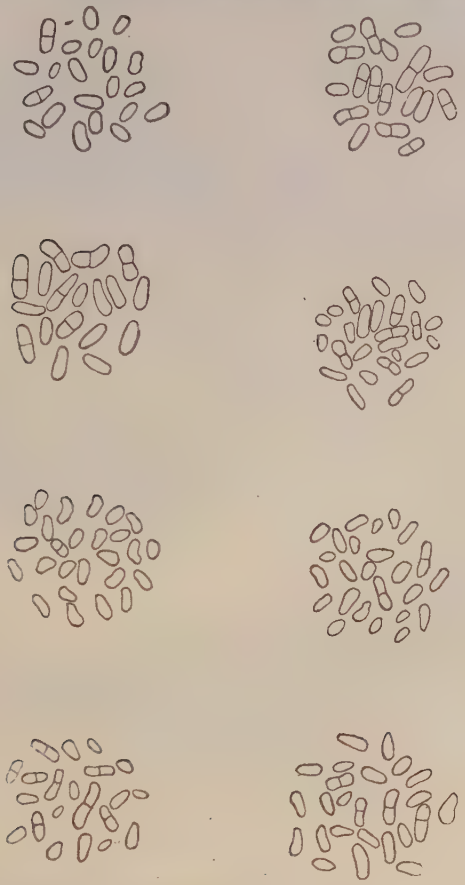


Fig. 13. — Picnospore delle fruttificazioni del fungo su diversi substrati. Dall'alto in basso; a sinistra: su frutti di zucca, su tuberi di patata, su frutti di agave e su baccelli di cassia; a destra: su foglie di oleandro, su colture di carote in tubi, su frutti di *Solanum sisymbriifolium* e su olive. (Camera lucida Abbe A.). × 610.

zate all'autoclave di rami e di frutti di oleandro, di tuberi di patata, di fittoni di carota e di frutti e organi carnosi assai varii; seguono gli estratti agarizzati di tali organi e infine vengono i substrati sintetici, nei quali

lo sviluppo è stentato se questi non sono ben provvisti di principi nutritivi carboidrati.

Nelle colture ho osservato soltanto la fruttificazione picnidica, la quale compare dopo che la colonia micelica ha raggiunto il massimo sviluppo superficiale e spesso anche dopo un certo tempo; non in tutti i substrati però il fungo sporifica.

I picnidi che si formano sull'agar sono gregari, irregolari, di dimensioni relativamente grandi. Sono variabilissimi da substrato a substrato, ma la sporificazione e le dimensioni delle spore rimangono pressochè uniformi e costanti (Fig. 13). Al disopra dei picnidi si producono in condizioni opportune grumi melmosi di spore incarnato od ocraceo: nelle colture su patata la massa delle picnospore presenta la prima colorazione, mentre la seconda si ha specialmente nelle colture su carota.

La sporificazione è particolarmente abbondante nelle colture su porzioni di germogli di oleandro o di tubero di patata e poi su agar carota. Molto scarsa e rara è negli altri substrati. Spesso, come nelle colture su germogli di oleandro, i picnidi sono circondati e immersi in un lasso intreccio di ife scure, fuliginee, sovente ingrossate ad ampolla e nodulose presso i setti.

La percentuale delle spore settate nelle colture di una certa età è in media più elevata che in natura: su agar patata glucosato all'1% supera spesso il 50% e su agar carota si ha una percentuale di poco superiore. Nella seguente tabella (I) riporto alcuni dati riguardanti le fruttificazioni picnidiche osservate in alcune colture:

Tab. I.

Terreno di coltura	Dimensioni medie dei picnidi (diametro)	Dimensioni medie delle spore	Percentuale delle spore settate
Patata in tubi.	150–350 µ	5-7,50 × 1,80-2,75 µ	9 %
Agar patata glucos. all' 1%	—	5-10 × 2,25-3 µ	67 %
Agar carota	150–280 µ	5-8 × 2-3 µ	42 %

IV. — **Inoculazione sperimentale.**

1. Riproduzione della malattia sull'Oleandro.

Su le piante dell'oleandro ho riprodotto l'infezione artificialmente tanto con le spore come con il micelio delle colture.

a) Inoculazioni con le spore. — Nelle piante all'aperto ponevo all'ascella delle foglie alcune gocce di una sospensione acquosa di spore del fungo. L'operazione veniva eseguita di sera dopo il tramonto del sole per dare alle gocce d'acqua la possibilità di poter rimanere sugli organi inoculati per un certo tempo senza prosciugarsi. Quando le gocce venivano messe a cielo coperto e la stagione era sufficientemente umida, con nebbia o con pioggie lenti, l'infezione riusciva nel 12-20% delle gocce collocate; quando invece il cielo era sereno, le infezioni erano rare oppure non si avevano affatto. Quest'ultimo risultato non era però tanto dovuto alla diminuita umidità attorno alla pianta quanto all'abbassamento della temperatura, che si aveva nella notte nei mesi autunnali durante i quali vennero fatti questi esperimenti, che impediva o ritardava la germinazione delle spore.

Le inoculazioni sono state ripetute, praticando una leggera ferita con un ago o con una lancettina all'ascella delle foglie nel punto d'inserzione del picciolo al ramo subito prima di mettere le gocce della sospensione acquosa di spore. In questo modo le infezioni sono aumentate fino ad arrivare al 42%.

Con la ferita o senza la ferita i risultati erano poi ancora migliori se in luogo della semplice goccia ponevo all'ascella delle foglie un batuffolino di cotone idrofilo imbevuto del liquido della sospensione di spore; in questo modo si conservavano più a lungo, nei punti di inoculazione, quelle condizioni di umidità favorevoli alla germinazione delle spore e alla penetrazione del micelio

nei tessuti, e per ciò la percentuale delle infezioni si elevava in confronto a quella ottenuta col metodo precedente.

Un altro esperimento l'ho fatto con l'aspersione a mezzo di uno spruzzatore di una diluitissima sospensione acquosa di spore su tutti gli organi verdi della pianta, eseguita in modo da cospargere la superficie delle foglie e dei rami di minutissime goccioline d'acqua, la gran parte delle quali dovevano avere almeno una spora del fungo. Le infezioni ottenute non sono state numerose per quanto venissero eseguite durante i giorni umidi e costantemente coperti, ma esse avvenivano nei medesimi punti ove si riscontravano le infezioni naturali e dimostravano che la parte più vulnerabile della pianta è sempre all'ascella delle foglie; mai si aveva l'infezione negli internodi, mentre molto rare erano quelle nervali e marginali nelle foglie.

b) *Inoculazioni col micelio.* — Col micelio delle colture ho eseguito vari esperimenti d'inoculazione. Ho per prima ripetuto le infezioni già fatte con una piccola porzione della coltura inumidita con alcune gocce di acqua. Il risultato è stato sempre negativo anche quando praticavo prima all'ascella delle foglie una lesione con l'ago o con una lancettina. Sono invece quasi sempre riuscite quando oltre alla lesione applicavo sopra al materiale di inoculazione e attorno al punto inoculato, uno straterello di cotone idrofilo imbevuto d'acqua per mantenere le condizioni di umidità richieste dal parassita.

Sono sempre riuscite positive le inoculazioni sottocorticali col micelio. Sotto la corteccia sollevata da una piccola ferita longitudinale prodotta col bisturi, collocavo un po' della coltura del fungo e poi fasciavo la ferita con ovatta bagnata e la rivestivo di carta oleata, che toglievo dopo 48 ore. In qualsiasi punto dei germogli, dei piccioli fiorali e dei frutti queste inoculazioni sono state seguite dall'infezione; un simile risultato l'ho ottenuto anche sui rami vecchi di due o tre anni, nei quali l'infe-

Fig. 14. — Infezione artificiale col micelio delle colture del fungo all'ascella di una foglia di *Nerium Oleander*. (Fot. dell'A., $^3/_4$ gr. nat.).

zione è molto più lenta ma riesce ugualmente a produrre necrosi corticali leggermente depresse di alcuni centimetri di ampiezza, le quali talora si estendevano a tutto un anello di corteccia, causando un piccolo cancro e infine il disseccamento del ramo (Tav. XVII, fig. 2).

L'*Ascochyta heteromorpha* si sviluppa usualmente sugli organi teneri e giovani di oleandro, perchè soltanto in questi l'infezione è usualmente possibile; ma non è escluso che si possa avere in natura anche l'infezione sui rami più vecchi della pianta, quando il parassita, attraverso a delle soluzioni di continuità della corteccia viene ad essere portato a contatto dei tessuti corticali interni o del cambio. Finora non ho riscontrato in natura simili casi di infezione ma gli esperimenti d'inoculazione dimostrano che essi potrebbero verificarsi.

2. Infezioni artificiali su organi di piante diverse.

Nelle inoculazioni su organi giovani e succolenti di piante diversissime, l'*Ascochyta heteromorpha* si è dimostrata molto virulenta e capace di svilupparsi parassiticamente su un numero grandissimo di substrati. Non tutte le sue colture però si sono dimostrate egualmente virulenti: la maggiore capacità parassitaria l'ho osservata nelle colture ottenute di fresco dai rami dell'oleandro e la minore dalle colture di una certa età, coltivate specialmente su substrati poveri di principi carboidrati; la virulenza delle colture d'isolamento dalle foglie mi è apparsa inferiore a quella delle colture dai rami o a quelle reisolate da questi inoculati con le colture dalle foglie.

Ho inoculato questo fungo con esito positivo su piantine germinanti di alcune leguminose e su piante mature di solanacee, di cucurbitacee e di altre famiglie. Nelle inoculazioni sui frutti, tuberi, bulbi ed altri organi carnosi non mi è riuscito di trovare nemmeno un caso con un'assoluta resistenza da parte degli organi inoculati, come risulta dalla tabella II.

Tab. II.

Nome delle piante	Organi inoculati	Intensità dell'infezione (1)
Acanthus mollis L.	foglie (picciolo)	mediocre (*c.*)
Agave americana L.	foglie	leggerissima (*fr.*)
— *fourcroides* Leh.	frutti	intensissima (*c.*)
Allium Cepa L.	bulbi, foglie	leggera (*fr.*)
— *sativum* L.	bulbi	leggera (*fr.*)
Arachis hypogaea L.	piantine, germogli	leggera (*sp.*)
Aucuba japonica Th.	frutti	intensa (*c.*)
Beta vulgaris L.	fittone, costole	leggerissima (*sp.*)
Brassica campestris L.	fittone, costole	leggerissima (*sp.*)
— *oleracea* L.	infiorescenza, costole	leggerissima (*r.*)
Capsicum annuum L.	frutti, rami	intensissima (*c.*)
Cassia corymbosa Lam.	frutti	intensissima (*c.*)
— *marylandica* L.	»	intensissima (*c.*)
Castanea sativa M.	»	intensa (*fr.*)
Cicer arietinum L.	piantine	leggerissima (*r.*)
Citrullus vulgaris L.	frutti	intensa (*c.*)
Citrus Aurantium L.	»	intensa (*c.*)
— *deliciosa* T.	»	intensa (*c.*)
— *Limonum* R.	»	intensa (*c.*)
— —	rami, germogli	nulla
Cucumis Melo L.	frutti, germogli	intensissima (*c.*)
— *sativus* L.	» »	intensissima (*c.*)
Cucurbita maxima D.	frutti	intensissima (*c.*)
— *Pepo* L.	»	intensissima (*c.*)
Cynara Scolimus L.	costole	leggera (*fr.*)
Dahlia pinnata C.	radici	mediocre (*c.*)

(1) Le abbreviazioni fra parentesi stanno a significare: *c*, costante; *fr*, frequente, quando l'infezione è riuscita nel maggior numero dei casi; *sp*, sporadica; *r*, rarissima o solo in qualche caso positiva.

Segue: Tab. II.

Nome delle piante	Organi inoculati	Intensità dell'infezione
Datura fastuosa L.	frutti	intensissima (*c.*)
— *Stramonium* L.	frutti, rami, foglie	intensissima (*c.*)
Daucus carota L.	fittone	leggera (*fr.*)
Diospyros Kaki L.	frutti maturi	leggerissima (*fr.*)
Euphorbia mauritanica L.	rami	intensa (*c.*)
Ficus Carica L.	frutti immaturi	intensa (*c.*)
Gossypium herbaceum L.	capsule, rami	intensa (*c.*)
Heptapleurum stellatum G.	germogli	leggera (*fr.*)
Ilex aquifolium L.	frutti	mediocre (*c.*)
Ipomoea Batatas P.	tuberi	mediocre (*c.*)
Lagenaria vulgaris S.	frutti	intensissima (*c.*)
Mespilus germanica L.	»	intensa (*c.*)
Monstera deliciosa Lieb.	foglie (piccioli)	mediocre (*c.*)
Musa Cavendishii Lam.	frutti	intensa (*c.*)
— *sapientum* L.	costole, guaine	mediocre (*fr.*)
Nicotiana rustica L.	germogli, costole	leggera (*c.*)
— *Tabacum* L.	» »	mediocre (*c.*)
Olea europaea L.	frutti	mediocre (*c.*)
— — L.	germogli, foglie	nulla
Opuntia Ficus-indica M.	cladodi, frutti	mediocre (*c.*)
— *vulgaris* M.	frutti	mediocre (*c.*)
Pelargonium zonale L'H.	rami	leggera (*fr.*)
Phaseolus vulgaris L.	piantine	intensissima (*c.*)
Philodendron cannaefolium M.	foglie (piccioli)	leggerissima (*fr.*)
Pirus communis L.	frutti	intensa (*c.*)
— *Malus* L.	»	intensa (*c.*)
Pisum sativum L.	piantine	leggerissima (*sp.*)
Poncirus trifoliatus R.	frutti	intensa (*c.*)

Segue: Tab. II.

Nome delle piante	Organi inoculati	Intensità dell'infezione
Punica granatum L.	frutti	leggerissima (*c.*)
— — —	germogli, foglie	nulla
Rhaphidophora decursiva S.	infiorescenza	leggera (*c.*)
Ricinus communis L.	rami, foglie	intensa (*c.*)
Rosa canina L.	frutti	mediocre (*c.*)
Ruscus aculeatus L.	»	mediocre (*c.*)
Salvia splendens K. G.	rami	mediocre (*c.*)
Senecio Cineraria D. C.	»	mediocre (*c.*)
Solanum Lycopersicum L.	frutti, rami	intensa (*c.*)
— *Melongena* L.	frutti	intensa (*c.*)
— *Pseudo-Capsicum* L.	frutti, rami	intensa (*c.*)
— *pyrancanthum* Lam.	» »	intensa (*c.*)
— *sisymbriifolium* Lam.	frutti	intensa (*c.*)
— *tuberosum* L.	tuberi	mediocre (*c.*)
Syringa vulgaris L.	germ., fogl., infiorescen.	nulla
Vicia Faba L.	piantine	leggerissima (*sp.*)

Queste inoculazioni sono state eseguite, nell'autunno e nell'inverno 1932-33, all'aperto e in serra nel Campo sperimentale della R. Stazione di Patologia Vegetale e nell'Orto Botanico della R. Università di Roma, oppure in laboratorio su frutti, tuberi e bulbi raccolti e staccati dalla pianta. Molte di esse, per quanto mi è stato possibile, sono state fatte tanto sulle piante come sugli organi raccolti.

L'infezione è stata sempre eseguita con un ago sterile col quale praticavo una leggera ferita sulla superficie previamente disinfettata dell'organo da inoculare, non più ampia di quanto occorreva per ricevere un piccolo

inoculo della coltura del fungo; le ferite sono state poi chiuse con paraffina non tanto calda, alla temperatura appena sufficiente a mantenerla fluida, o con vasellina, oppure ricoperte con cotone idrofilo inumidito. Quando la ferita non è stata chiusa e l'inoculazione è stata fatta superficialmente, l'infezione per lo più non è riuscita a causa del disseccamento rapido dei tessuti corticali lesi e del micelio. I migliori risultati li ho ottenuti con la chiusura alla paraffina, la quale è stata eseguita in laboratorio in quasi tutti i frutti e gli altri organi carnosi elencati nella tab. II; sugli steli, i rami e i germogli ho usato invece la fasciatura col cotone protetta o no dalla carta oleata. Nei frutti di varie cucurbitacee, solanacee, rosacee e rutacee, e nei frutti di *Agave, Cassia, Ficus, Gossypium, Mespilus, Musa, Opuntia,* ecc. ho sempre ottenuto un marciume profondo che si estendeva gradatamente all'intero frutto riducendolo spesso in un corpo scuro, duro, mummificato o talora in un ammasso molle, putrido, se l'infezione era seguita dalla penetrazione di schizomiceti e di muffe aspergillacee. Nei bulbi, tuberi e radici, cioè negli organi sotterranei, l'azione del parassita si è limitata a un marciume circoscritto piuttosto a una piccola zona; nei bulbi di cipolla e negli spicchi d'aglio il marciume è giallastro ed è circondato da un alone roseo caratteristico. Negli steli,

Fig. 15. — Pera dopo 40 giorni dall'inoculazione col micelio delle colture del parassita (Fot. dell'A., $^{9}/_{10}$ gr. nat.).

nei germogli, nei piccioli e nelle nervature mediane delle foglie, l'infezione è quasi sempre maculare per quanto più o meno intensa e rapida, ed è sempre accompagnata dalla distruzione dei tessuti parenchimatici. Nelle giovani piante di tabacco e di altre solanacee produce una lesione depressa che ricorda il cancro dello stelo prodotto nel pomodoro dalla *Didymella Lycopersici* Kleb. [15, 17]; il fusto si curva al disopra della lesione per assumere un aspetto sinuoso. Le macchie d'infezione e le curvature sono tanto più estese e intense quanto più il fusto è giovane e l'inoculazione viene praticata in alto, presso l'apice (Tav. XIX, fig. 2-3).

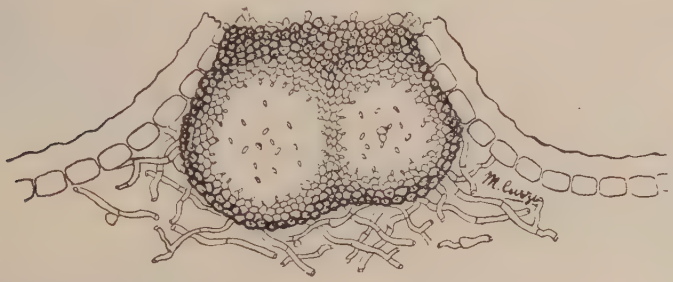


Fig. 16. — Picnidio subcomposto su frutto di *Cucurbita pepo*. (Camera lucida Abbe A.). × 190.

Soltanto sui rami e sui germogli di piante legnose come olivo, lillà, limone e melograno, ho ottenuto una resistenza assoluta; nei frutti di queste e di tutti gli organi sperimentati delle altre piante, il fungo non si è dimostrato mai incapace a parassitizzare. Nel cavolo si è avuta una resistenza quasi assoluta; solo in qualche caso il parassita è riuscito a produrre una leggerissima infezione limitata a una piccola macchia. Nelle piantine di pisello, di cece, di fava e di altre leguminose ad eccezione del fagiolo, la parassitizzazione è stata sporadica e sovente pedale, a causa del micelio del fungo in sviluppo nel terriccio del terreno previamente inoculato.

In tutte queste infezioni il parassita non si è dimostrato mai virulento come nell'oleandro e mai, come in questa pianta, segue all'infezione l'abbondante diffusione delle tossine che determina la estesa necrosi dei tessuti non ancora invasi dal micelio.

Il fungo è stato sempre reisolato in coltura dagli organi infettati artificialmente.

V. — Condizioni favorevoli allo sviluppo dell'infezione.

Per la sua virulenza e per la capacità che ha di attaccare piante assai diverse l'*Ascochyta heteromorpha* potrebbe essere un parassita temibile, responsabile di gravi danni specialmente alle coltivazioni di piante ortive e ornamentali; ma finora risulta dannoso solo all'oleandro ove, nell'inoculazione sperimentale, l'azione parassitaria è risultata massima per la rapidità e l'estensione dell'infezione. Generalmente però anche su questa pianta il fungo non è estremamente dannoso, perchè rare volte incontra quelle condizioni richieste per il suo favorevole sviluppo. Nel *Nerium Oleander* la malattia si manifesta per lo più su qualche germoglio o su alcune foglie. Quasi tutte le piantagioni di oleandro dei viali e dei giardini di Roma e dei luoghi limitrofi presentano una simile infezione; solo in qualche caso la malattia si mostra intensa, estesa a quasi tutti i giovani rami, che avvizziscono rapidamente, compromettendo la vitalità e lo sviluppo della pianta, la quale non può mai arrivare a presentare il suo denso caratteristico cespuglio.

Questi casi si hanno soltanto in quelle piante attorno alle quali l'atmosfera permane umida per molto tempo; cioè nelle piantagioni poste nei luoghi bassi e poco ventilati, durante i periodi molto umidi dell'autunno e talora anche della primavera.

Senza un permanente, discreto stato di umidità non è possibile che il fungo possa riuscire veramente dannoso,

come generalmente succede per le altre specie del genere. Così per l'*Ascochyta Fagopyrum* Th. et Boll., Lauritzen [18] riporta che per ottenere l'infezione occorre un grado di umidità minimo di 90 e massimo di 100 per cento.

Fig. 17. — Picnidi superficiali su capsule di *Gossypium herbaceum*. (Camera lucida Abbe A.). × 180.

L'umidità atmosferica serve non soltanto a facilitare la germinazione e la penetrazione delle spore nei tessuti dell'ospite, ma anche ad aumentare notevolmente la produzione e la diffusione delle spore del fungo. In un'atmosfera carica di umidità i picnidi sono più numerosi e più grandi, la sporificazione più abbondante e più rapida sebbene le spore siano meno sviluppate e in gran parte continue.

In una osservazione sui frutti infettati lasciati sulle piante e in quelli raccolti dopo lo sviluppo dell'infezione e tenuti in camera umida, ho avuto i seguenti dati (tabella III):

Tab. III.

Substrato	Dimensioni medie dei picnidi (diametro)	Dimensioni medie delle spore	Percentuale delle spore settate
Frutti infetti lasciati su le piante	100-250 µ	5,5-8 × 2,25-3 µ	60 %
Frutti infetti raccolti e posti alcuni giorni in camera umida	190-280 × 270-400 µ	4-6,5 × 1,8-2,5 µ	3 %

VI. — **Le fruttificazioni del fungo nelle diverse matrici.**

Non poteva essere data una denominazione specifica più appropriata a questa *Ascochyta*, per le fruttificazioni estremamente eteromorfe che essa presenta nei vari substrati matricali. Nello stesso oleandro i caratteri morfo-

Fig. 18. — Picnidio scleroso su la superficie di un frutto di *Solanum sisymbriifolium* inoculato artificialmente. (Camera lucida Abbe A.). × 350.

logici del fungo sono assai diversi : nelle foglie, nei frutti e nei rami, i picnidi si presentano con forme e dimensioni differenti e le spore con una maturazione più o meno spinta, messa in evidenza dalla percentuale delle spore settate ; ma in tutti i casi i picnidi che si trovano usualmente in natura sull'oleandro sono sempre sottoepidermici, immersi ed erompenti. Nei diversi ospiti artificiali

queste variazioni sono più marcate e le fruttificazioni, prese separatamente, potrebbero essere benissimo classificate come appartenenti a più d'una specie di fomacee. In certe matrici i picnidi sono relativamente grandi, globosi o ellissoidali, in altre invece piuttosto piccoli, quasi rotondi o piriformi; spesso sono sottoepidermici

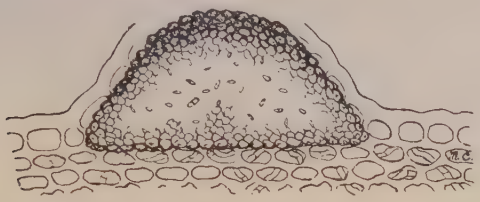


Fig. 19. — Picnidio su frutto di *Cassia corymbosa*.
(Camera lucida Abbe A.). × 180.

come nella gran parte delle foglie e dei rami di piante differenti, qualche volta sono immersi profondamente nel substrato come si osserva nei frutti di melanzana, op-

Fig. 20. — Picnidio subcomposto su frutto di *Olea europaea*.
(Camera lucida Abbe A.). × 190.

pure completamente superficiali come nei frutti delle solanacee e in questo ultimo caso sono piuttosto consistenti, sclerosi, più scuri e rivestiti di cellule a parete relativamente spessa (Fig. 18).

Nei frutti di *Cassia* sono allungati e schiacciati in modo da imitare nell'aspetto le fruttificazioni di *Phomopsis* (Fig. 19); i picnidi hanno inferiormente la parete chiara e sottile e quella superiore scura e spessa. Nella tabella IV riporto alcuni dati relativi alle fruttificazioni del fungo su vari organi dell'oleandro e di altre piante inoculate artificialmente.

Tab. IV.

Substrato matricale	Dimensioni medie dei picnidi (diametro)	Dimensioni medie delle spore	Percentuale delle spore settate
Nerium Oleander (rami)	100-275 μ	4,5-8 × 2-2,5 μ	24 %
— — (foglie)	110-280 μ	5-10 × 2,25,3 μ	40 %
— — (foglie dell' essiccato Maublanc)	130-300 μ	5-10 × 2-3 μ	38 %
Agave fourcroides (frutti)	125-350 μ	3,75-8,75- × 2-2,75 μ	20 %
Cassia corymbosa (frutti)	125-250 × 100-175 μ	3-8,75 × 2-2,5 μ	10 %
Cucurbita Pepo (frutti)	130-200 μ	3,75-7 × 2-2,5 μ	14 %
Gossypium herbaceum (frut.)	100-150 μ	4-7,50 × 2,25-2,80 μ	15 %
Ficus Carica (frutti)	150-225 μ	5-7,5 × 2,5-3 μ	16 %
Musa Cavendishii (frutti)	125-175 μ	5-6 × 2,25-2,5 μ	5 %
Opuntia Ficus-indica (frut.)	100-180 μ	4,5-5,5 × 2-2,25 μ	3 %
Pirus communis (frutti)	175-250 μ	4,25-8 × 2,5-3,5 μ	12 %
Solanum sisymbriifolium (frutti)	50-125 μ	5-5,5 × 2-2,5 μ	8 %
— *tuberosum* (tuberi)	190-275 μ	6-10 × 2,5-3,5 μ	36 %

Dalla tabella si rileva che in genere il numero delle spore settate non è elevato e che è sempre inferiore alla metà. Le percentuali più alte si hanno nell'oleandro e più sulle foglie che sui rami, perchè su quelle lo sviluppo delle fruttificazioni è meno rapido che su questi. Nelle

fruttificazioni sui tuberi di patata la percentuale delle spore settate è elevata perchè anche su questa matrice i picnidi sono rari e si sviluppano lentamente, mentre sui frutti in genere la sporificazione è abbondante e rapida e la percentuale delle spore settate è piccola; essa è generalmente inferiore a un quinto e superiore a un trentesimo della totalità di tutte le spore.

VII. — **Affinità e diffusione della specie.**

L'inoculazione artificiale ha ampiamente dimostrato la polifagia di questo fungo, la quale fa dubitare che esso possa esistere in natura su altre piante oltre che sull'oleandro; dal confronto però con altre specie di *Ascochyta* responsabili di infezioni sulle più comuni piante coltivate, non trovo corrispondenza con questa specie. Tanto l'*Ascochyta hortorum* (Speg.) Sm., quanto l'*Ascochyta Pisi* Lif., l'*Ascochyta pinodes* Berk. et Blox. e l'*Ascochyta citrullina* C. O. Sm., cioè le specie più dannose del genere, hanno le spore sensibilmente più grandi, circa il doppio di quelle dell'*Ascochyta heteromorpha*. Questa si distingue inoltre per lo sviluppo colturale e per l'azione parassitaria, la quale è talora affine a quella dell'*Ascochyta hortorum*, ma sostanzialmente diversa da quella delle specie parassite delle leguminose, ove essa, nell'inoculazione sperimentale, è risultata debolmente e poche volte parassita.

Sui tuberi di patata e in diversi frutti carnosi l'*Ascochyta hortorum* mi ha dato una infezione simile a quella prodotta dall'*Ascochyta heteromorpha*, però il parassitismo è più lento e non è esteso alla medesima quantità di substrati di questa.

Sui frutti di melanzana la parassitizzazione delle due specie è ben distinta. La prima dà luogo a macchie estese di marciume rapido piuttosto umido, le quali finiscono per interessare l'intero frutto: sporifica abbondantemente

alla superficie con picnidi numerosissimi aggregati e con spore in masse melmose pallide incarnate. La seconda produce macchie limitate, ma più depresse e il marciume è relativamente asciutto in confronto a quello prodotto

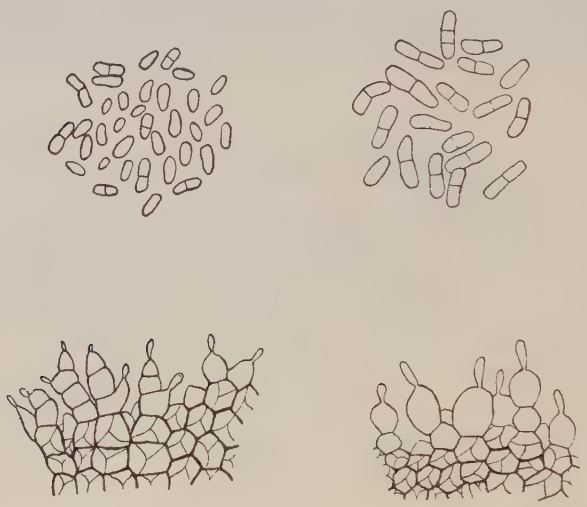


Fig. 21. — Cellule sporifere e picnospore dei picnidi sviluppatisi su un frutto di *Solanum Melongena* di *Ascochyta heteromorpha* (a sinistra) e di *Ascochyta hortorum* (a destra). (Camera lucida Abbe A.). × 600.

dalla specie precedente; la sporificazione è scarsa e prevalentemente profonda; è abbondante invece lo sviluppo del micelio aereo che manca quasi assolutamente nelle infezioni di *Ascochyta hortorum*.

Per la sua morfologia l'*Ascochyta* isolata dall'oleandro rientra in un gruppo di specie che potrebbe comprendere l'*Ascochyta Lathiri* Trail, l'*Ascochyta Phaseolorum* Sacc., l'*Ascochyta Syringae* Bres., l'*Ascochyta linicola* Naoum. et Vass., l'*Ascochyta pinodella* Jones e altre specie di minore importanza alcune delle quali potrebbero riferirsi a stipiti di *Ascochyta heteromorpha*.

L'*Ascochyta Syringae* l'ho riscontrata fin dal 1926 [8] a produrre sul lillà un avvizzimento dei germogli non

dissimile da quello prodotto dall'*Ascochyta heteromorpha* sull'oleandro. Per dissipare il dubbio che potesse esserci fra la prima e la seconda l'identità, ho ripetuto sulla *Syringa vulgaris* tutte le inoculazioni fatte sul *Nerium Oleander;* ma per quanto sottoponessi le piante di lillà a condizioni favorevolissime all'infezione, non ho potuto avere mai il minimo sintomo di parassitizzazione su questa pianta; e infatti, ho osservato piante vicinissime fino al punto da toccarsi con i rami di *Nerium* e di *Syringa,* senza che l'infezione intensa che colpiva la prima avesse a svilupparsi anche debolmente nella seconda pianta.

VIII. — **Conclusioni.**

1. — La *Phoma? heteromorpha* Sch. et Sacc., descritta nel 1884 e rimasta finora come una specie indefinita, rientra nel genere *Ascochyta* Lib., nel quale è riportata sotto la denominazione di *Ascochyta heteromorpha* (Sch. et Sacc.) n. c.

2. — Il fungo fruttifica soltanto nella forma picnidica, e sviluppa organi vegetativi di conservazione: sclerozi e clamidospore.

3. — Dalla discussione critica sui generi di *Phomaceae* ialodidime, non viene riconosciuta una sostanziale differenza fra i generi *Ascochyta* Lib. (1837) e *Diploplenodomus* Died. (1915). Le specie di *Ascochyta* a sporofori ben distinti debbono essere riportate al genere *Diplodina* West. (1857). L'*Ascochyta corticola* Mc Alp. (1899) è chiamata *Diplodina corticola* (Mc Alp.) n. c. e la *Diplodina corticola* Appel et Strunk (1903), *Diplodina Strunkii* n.n.

4. — La *Phoma oleandrina* Delacr. (1905) è un sinonimo di *Ascochyta heteromorpha,* mentre l'*Ascochyta Oleandri* Sacc. et Speg. è una specie dubbia e ha una descrizione che la rende inconfondibile con questa.

5. — L'*Ascochyta heteromorpha* è un parassita del *Nerium Oleander* sul quale causa un seccume che col-

pisce tutti gli organi verdi della pianta. Per lo più si manifesta su qualche germoglio e su alcune foglie, ma in certi casi arriva a sopprimere quasi tutti i getti emessi durante l'anno, compromettendo la vitalità e lo sviluppo della pianta.

6. — L' infezione inizia usualmente all'ascella delle foglie ed è seguita dalla rapida e abbondante diffusione delle tossine del fungo nella nervatura mediana delle foglie e nella parte superiore del ramo, in modo che vaste zone di tessuti vengono necrotizzate senza essere invase dal micelio.

7. — La malattia si manifesta a Roma e nei dintorni in tutte le stagioni dell'anno, ma è più dannosa in autunno e meno in estate. Il suo sviluppo è influenzato sensibilmente dall'umidità atmosferica, la quale non soltanto facilita l'infezione ma aumenta notevolmente la produzione e la diffusione delle picnospore del fungo.

8. — La malattia è stata riprodotta con le sospensioni acquose di picnospore e con il micelio delle colture, per aspersione e per inoculazione subcorticale; con questo ultimo metodo il fungo riesce a svilupparsi parassiticamente anche nei rami di due o tre anni, che sfuggono all'infezione naturale.

9. — Nelle inoculazioni in organi giovani e succolenti di piante diversissime, il parassita si è dimostrato molto polifago e capace di parassitizzare un numero grandissimo di germogli, frutti, bulbi, tuberi e altri organi carnosi. È stato provato con successo su circa una settantina di specie di fanerogame, ma in nessun caso esso si è dimostrato virulento come sull'oleandro.

10. — Le dimensioni e la struttura dei picnidi e la percentuale delle spore settate variano notevolmente con la natura del substrato e con le condizioni ambientali.

11. — La specie è ben distinta dalle comuni specie del genere più dannose alle piante coltivate, è affine invece all' *Ascochyta Syringae* Bres., all' *Ascochyta pinodella* Jones e ad altre specie simili, alcune delle quali potreb-

bero essere dei semplici stipiti di *Ascochyta heteromorpha*. Essa è stata confrontata nelle colture artificiali e nelle inoculazioni sperimentali con l'*Ascochyta hortorum* (Speg.) Sm. e con l'*Ascochyta Syringae*.

IX. — **Summary.**

The *Phoma? heteromorpha* Sch. et Sacc. described in 1884, until now considered as a doubtfull and indefinite species, corresponds to the *Phoma oleandrina* Delacr. (1905) and is transferred to the gen. *Ascochyta* Lib. The exact sistematic position is *Ascochyta heteromorpha* (Sch. et Sacc.) n. c. The fungus is parasitic on oleander causing a blight on twigs in active growth and in some cases a severe destruction of the new season growth has been observed. The infection is especially harmfull in autumn starting at the base of the leaf insertion, followed by a rapid diffusion of fungal toxines through the fibrovascular bundles and necrosis of considerables amount of tissues not invaded by micelium.

The disease has been experimentally trasmitted both with picnospores and micelium. Bark inoculations have been positive on twigs one or more years old of oleander as well as on other plants: young shoots, bulbs, tubers and other fleshy organs of about 70 species of fanerogams have been inoculated with success.

The fungus morphology, artificial and natural development in different environnement conditions have been investigated and a comparison has been made with some related species.

Roma, R. Stazione di Patologia Vegetale, Luglio 1933.

M. Curzi.

BIBLIOGRAFIA CITATA.

1. Allescher A., *Fungi imperfecti.* Rab. Kryptog. Fl.; Die Pilze, VI, pp. 60-61, 1901.
2. Appel O. und Strunk H. F., *Ueber einige in Kamerun auf Theobroma Cacao beobachtete Pilze.* « Centralblatt Bakteriologie », Z. Abt., XI B., pp. 551-557, fig. 1-9, 1903.

3. Brien R. M., *Pathogenicity of the bark-blotch organism. Esperiment work of Lemon trees.* « New Zeeland Journ. of Agric. », XLII, 8, pp. 341-347, 6 figs., 1931.
4. Brunaud P., *Miscellanées mycologiques.* « Act. Soc. Linn. Bordeaux », XLII, 1888.
5. Cavara F., *Intorno al disseccamento dei grappoli della vite. II. Coniothyrium Diplodiella* (Speg.) Sacc. « Atti Ist. Bot. R. Univ. Pavia », ser. 2, vol. I, p. 301, 1888.
6. Clements F. E. and Shear C. L., *The Genera of Fungi*, New York Wilson Company, 496 pp., 58 Pl., 1931.
7. Curzi M., *Sulla flora micologica delle Marche.* « Atti Ist. Bot. R. Univ. Pavia », ser. III, vol. II, pp. 49-115 (p. 94), tav. III, 1924 (1925).
8. — *Di uno speciale parassitismo dell'Ascochyta Syringae.* « Atti Soc. It. Progresso Scienze », XV Congresso, Bologna, 1926.
9. — *Ricerche morfologiche e sperimentali su un micromicete termofilo.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. Roma », A. X, N. S., pp. 222-280 (p. 228), 14 fig., tav. III-IV, 1930.
10. Delacroix M. G., *Travaux du Laboratoire de Pathologie végétale.* « Bulletin Soc. Mycol. France », tom. IX, p. 266, pl. XIV, 1893.
11. — *Sur une maladie des Lauriers-roses due au Phoma oleandrina n. sp.* « Bull. Trim. Soc. Mycol. », XXI, 3°, pp. 186-190, 6 fig., 1905.
12. Diedicke H., *Die Abteilung Hyalodidymae der Sphaerioideen.* « Annales Mycol. », X, pp. 135-152, 1912.
13. — *Sphaeropsideae, Melanconieae.* « Kryptogamen. der Mark Brandenb. », Pilze VII, B. IX, 962 pp., Leipzig, 1915.
14. Grossenbacher J. G., *A Mycosphaerella wilt of melons.* « Geneva N. J. Agric. Exp. Stat », Bull. 9, pp. 195-229, 4 pl., 1909.
15. Heinsen E., *Das Auftreten und die Verbreitung des Tomatenkrebses bei Hamburg.* « Zeitschr. für Pflanzenkr. », XXXI, 1-2, pp. 16-18, 1921.
16. Jones L. K., *Studies of the nature and control of blight, leaf-and potspot and footrot of peas caused by species of Ascochyta.* « Geneva N. J. Agric. Exp. Stat. », Bull. 547, 1927.
17. Klebahn H., *Der Pilz der Tomatenstengelkrankait und seine Schlauchfruchform.* « Zeitschr. für Pflanzenkr. », XXXI, 1-2, pp. 1-16, 10 fig., 1921.
18. Lauritzen J. G., *The relation of temperature and humidity to infection by certain fungi.* « Phytopathology », IX, pp. 7-35, 1929.
19. Linford M. B. and Sprague R., *Species of Ascochyta parasitic on the pea.* « Phytopathology », XVII, p. 381, 1927.
20. Ludwig O., *Untersuchungen an Ascochyta Pisi Lib.* « Beitr. Biol. der Pflanzen », XVI, 3, pp. 464-510, 4 pl., 1928.
21. Mc Alpine D., *Fungus Diseases of Citrus Trees in Australia, and their Treatment.* « Agric. Dept. Victoria », 132 pp., 31 pl., Melbourne, 1899.

22. Saccardo P. A., *Sylloge Fungorum;* vol. III, XI, XVI, XVIII, Patavii, MDCCCLXXXIV - MCMVI. *Typis Seminarii.*

23. Sculzer von Muggenburg S. et Saccardo P. A., *Micromycetes Slavonici novi.* « Hedwigia », XXIII, 1884.

24. Sprague R., *Höst range and life-history studies of some leguminous Ascochyta.* « Phytopathology », pp. 917-932, pl. XXXIV-XXXVI, 1927.

25. Wehlburg C., *Onderzoekingen over erwtenanthracnose.* « N. V. Hollandia-Drukkery, Baarn », 65 pp., 15 fig., 1932.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

Tavola XII.

Germoglio di *Nerium Oleander* attaccato dall'*Ascochyta heteromorpha* raccolto e fotografato il 19 ottobre '932. La necrosi esterna è visibile fin quasi all'apice del germoglio e lungo le nervature delle ultime foglie, mentre il micelio del parassita non ha oltrepassato i due centimetri dal punto iniziale dell'infezione (*a*). In basso a destra si osserva la parte superiore di una foglia necrotizzata lungo la nervatura mediana da una seconda infezione ascellare nella parte più bassa del ramo. (Fot. dell'A., 9/10 gr. nat.).

Tavola XIII.

Fig. 1. — Infezione ascellare. Ramo raccolto e fotografato il 27-II-''33. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 2. — Germoglio infetto fotografato il 15-XII-''32. È ben visibile in una foglia l'interruzione della manifestazione esterna della necrosi lungo la porzione inferiore della nervatura mediana. (Fot. dell'A.; 4/5 gr. nat.).

Fig. 3. — Germoglio infettato artificialmente con aspersione della sospensione acquosa di picnospore il 3-XI-''32, fotografato il 15-XII-''32. (Fot. dell'A.; 4/5 gr. nat.).

Tavola XIV.

Fig. 1. — Germoglio quasi completamente avvizzito e necrotizzato, infettato artificialmente in *a*, con micelio sopra piccola ferita tenuto ricoperto per quattro giorni con cotone idrofilo, il 1-XI-''32, fotografato il 30-XI-''32. La necrosi si estende fino all'apice e il micelio ai due internodi inferiori. Le foglioline apicali stanno per avvizzire, mentre le altre inferiori sono completamente disseccate. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 2. — Germoglio con due infezioni peziolari artificiali, le quali non si sono ancora estese alle altre foglie e alle porzioni corrispondenti del ramo. Le due foglie sono state infettate contemporaneamente: la superiore con micelio delle colture e l'inferiore con le picnospore; entrambi le inoculazioni sono state eseguite senza ferita e fasciate per due giorni con cotone idrofilo. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Tavola XV.

Vari tipi di giovani macchie prodotte sulle foglie dal parassita. Nella foglia a sinistra è visibile nella nervatura mediana una leggera necrosi, in corrispondenza della macchia dell'infezione marginale. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Tavola XVI.

Foglie di un germoglio infetto con la necrosi lungo la nervatura mediana fino all'apice senza l'invasione del micelio, la quale è limitata soltanto al picciolo. Il lembo apicale è imbrunito per l'accumulo delle tossine trasportate dalla corrente traspiratoria; sui tessuti già necrotizzati si è sviluppata dal margine presso l'apice della foglia a sinistra una infezione secondaria. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Tavola XVII.

Fig. 1. — Frutti di *Nerium Oleander* dopo una settimana dall'inoculazione del micelio del fungo nella scanalatura mediana. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 2. — Ramo di *Nerium Oleander* di tre anni dopo quaranta giorni dall'inoculazione subcorticale del micelio del parassita. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 3. — Drupe di *Olea europaea* verdi e immature dopo dieci giorni dall'inoculazione. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 4. — Frutti di *Rosa canina* inoculati il 5-XII-''32, fotografati il 20-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Tavola XVIII.

Fig. 1. — Siconio immaturo di *Ficus carica* inoculato il 29-XI-''32, fotografato il 7-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 2. — Frutto di *Agave* inoculato il 29-XI-''32, fotografato l'8-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 3. — Fittone di *Dacus Carota* inoculato il 21-XI-''32, fotografato il 7-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 4. — Piantine di *Phaseolus vulgaris* inoculate il 29-XI-''32, fotografate l'8-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Tavola XIX.

Fig. 1. — Legumi di *Cassia corymbosa* inoculati il 29-XI-''32, fotografati il 7-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 2. — Stelo di *Nicotiana Tabacum* inoculato il 9-XII-''32, fotografato il 22-XII-''32. (Fot. dell'A.; 3/4 gr. nat.).

Fig. 3. — Stelo di *Nicotiana Tabacum* inoculato presso l'apice il 9-XII-''32, fotografato il 19-XII-''32. È caratteristica la curvatura dell'asse della pianta in seguito all'infezione. (Fot. dell'A.; 3/4 gr. nat.).

Tavola XX.

Fig. 1. — Foglia di *Ricinus communis* inoculata nell'ultima porzione del picciolo presso il lembo il 5-XII-''32, fotografata il 12-XII-''32. (Fot. dell'A.; 1/2 gr. nat.).

Fig. 2. — Frutto di *Opuntia vulgaris* inoculato il 29-XI-''32, fotografato il 14-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 3. — Picciolo fogliare di *Monstera deliciosa* inoculato il 29-XI-''32, fotografato il 28-XI-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 4. — Ramo di *Euphorbia mauritanica* inoculato il 29-XI-''32, fotografato l'8-XII-''32. (Fot. dell'A.; 4/5 gr. nat.).

Fig. 5. — Frutto immaturo di *Mespilus germanica* inoculato il 21-XI-''32, fotografato il 28-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 6. — Frutto di *Opuntia Ficus-indica* inoculato il 21-XI-''32, fotografato il 15-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Tavola XXI.

Fig. 1. — Esperidio di *Citrus Aurantium* inoculato il 29-XI-''32, fotografato il 14-XII-''32. (Fot. dell'A.; 9/10 gr. nat.).

Fig. 2. — Esperidio di *Citrus deliciosa* inoculato il 29-XI-''32, fotografato il 14-XII-''32. (Fot. dell'A.; 9/10 gr. nat.).

Fig. 3. — Frutto di *Solanum sisymbriifolium* inoculato il 29-XI-''32, fotografato il 7-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 4. — Esperidio di *Poncirus trifoliata* inoculato il 29-XI-''32, fotografato il 7-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 5. — Frutto di *Solanum pyrancanthum* inoculato il 29-XI-''32, fotografato il 7-XII-''32. (Fot. dell'A.; gr. nat.).

Fig. 6. — Frutto di *Pirus Malus* inoculato il 21-XI-''32, fotografato il 5-XII-''32. (Fot. dell'A.; 9/10 gr. nat.).

Fig. 7. — Frutto di *Pirus communis* inoculato il 21-XI-''32, fotografato il 28-XII-''32. (Fot. dell'A.; 9/10 gr. nat.).

L'Aut. fot.

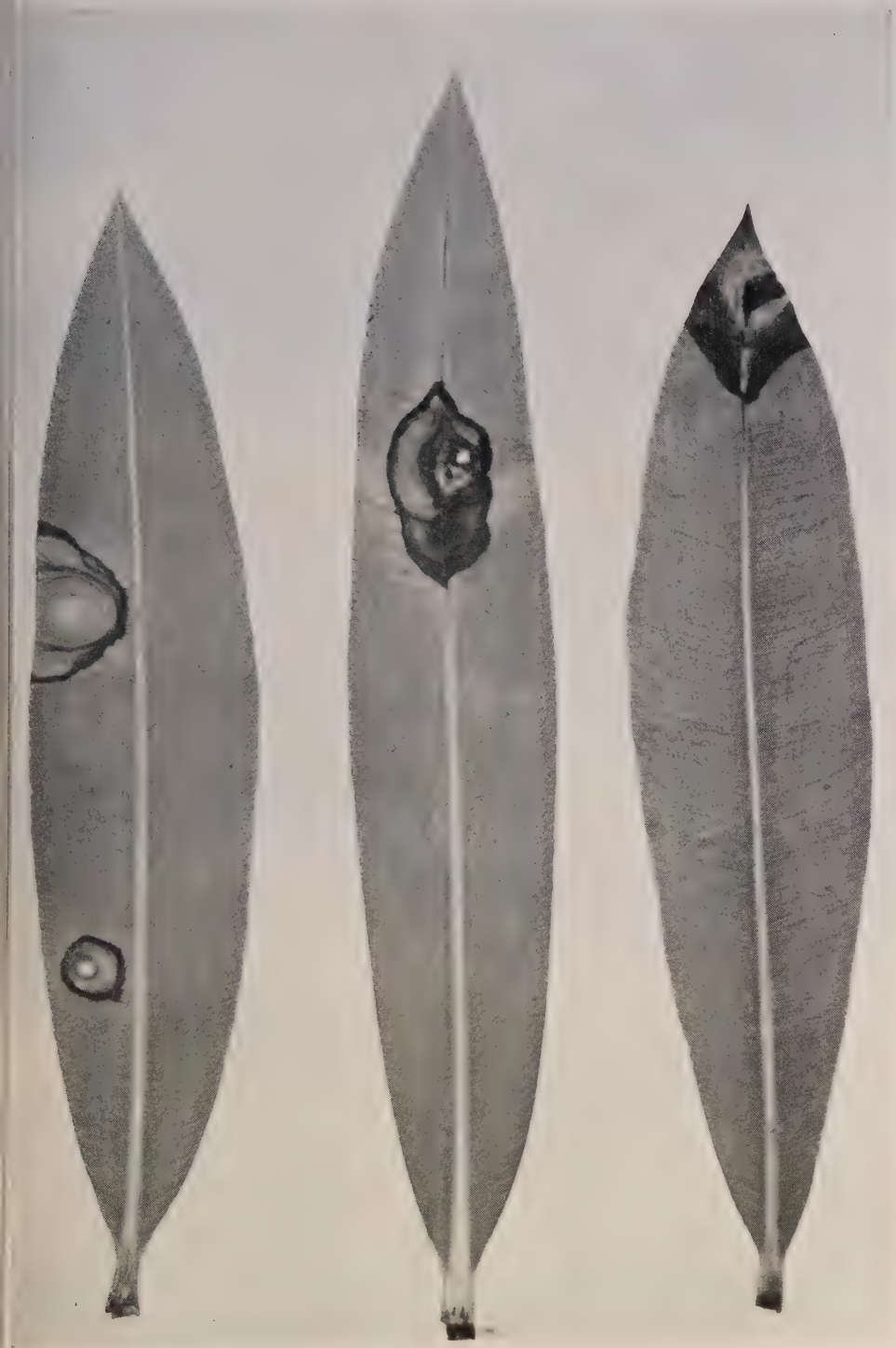
Curzi M. — *L'Ascochyta heteromorpha.*

L'Aut. fot.

Curzi M. — *L'Ascochyta heteromorpha.*

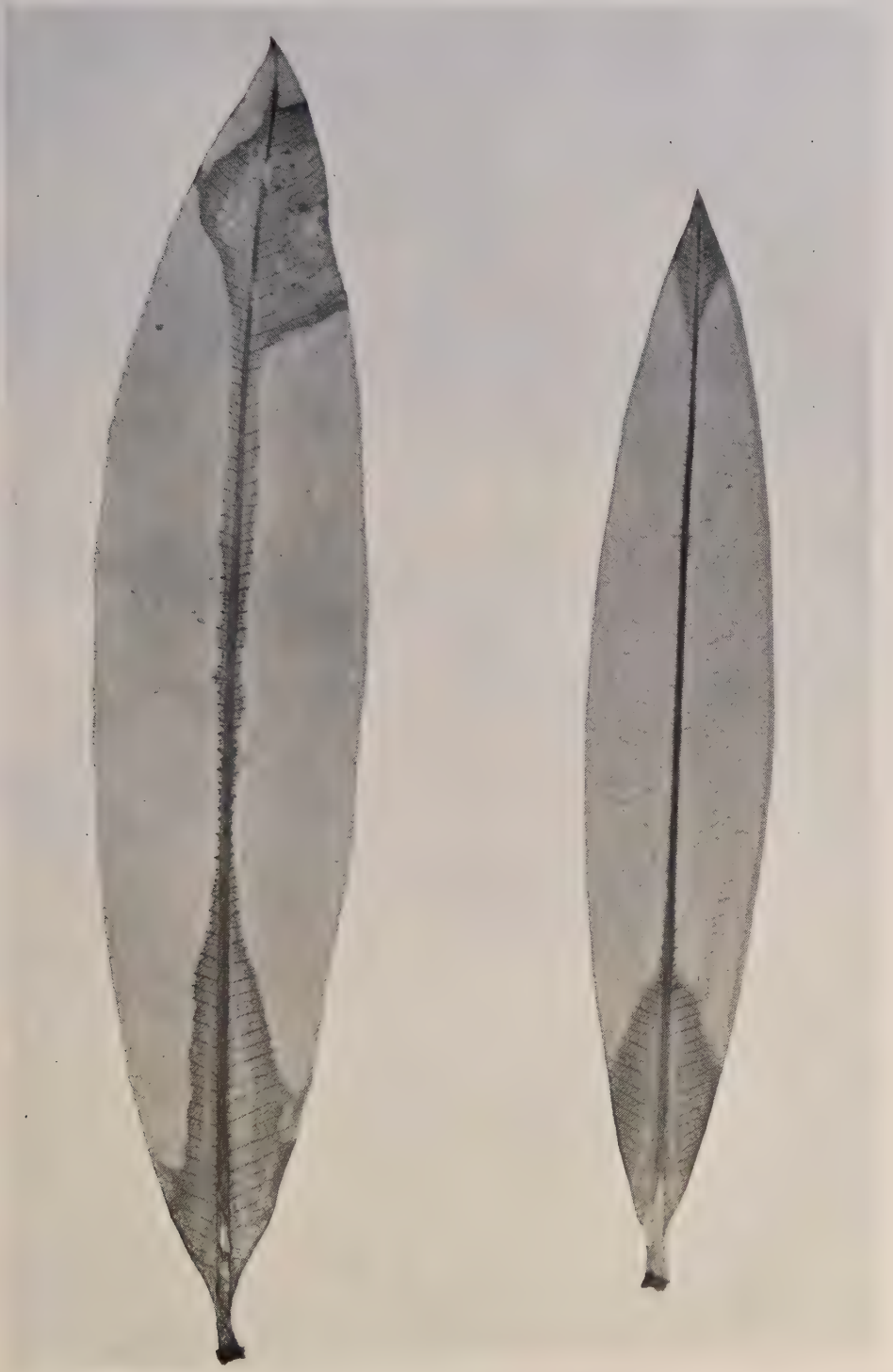
L'Aut. fot.

Curzi M. — *L'Ascochyta heteromorpha.*



L'Aut. fot.

Curzi M. — *L'Ascochyta heteromorpha.*



L'Aut. fot.

Curzi M. — *L'Ascochyta heteromorpha.*

L'Aut. fot.

Curzi M. — *L'Ascochyta heteromorpha.*

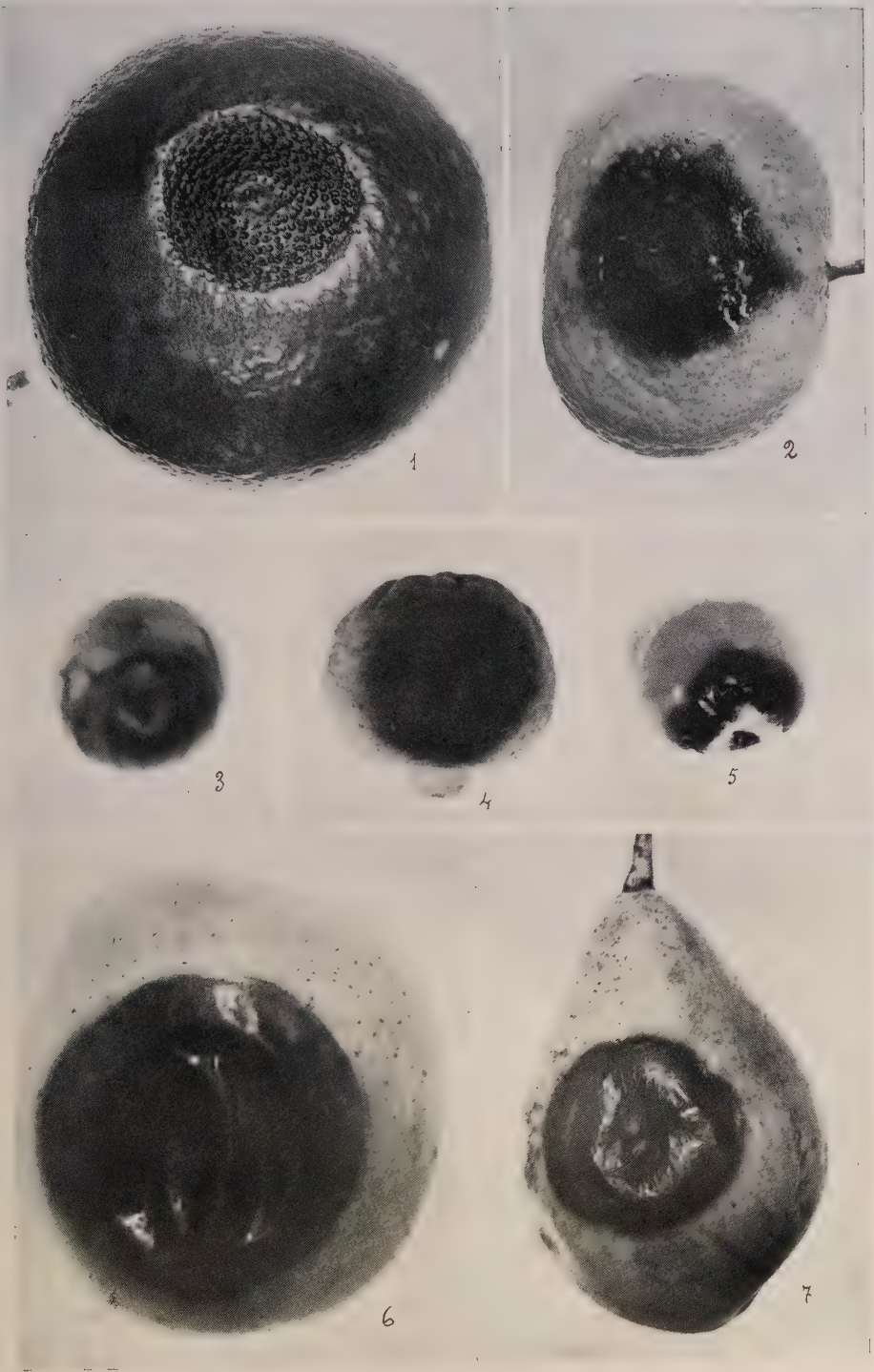
L'Aut. fot.

Curzi M. — *L'Ascochyta heteromorpha.*

L'Aut. fot.

L'Aut. fot.

Curzi M. — *L'Ascochyta heteromorpha.*



L'Aut. fot.

PIERO VOGLINO

Il 22 ottobre scorso si è spento il Comm. Prof. Dr. Piero Voglino, Direttore del Laboratorio Sperimentale di Fitopatologia di Torino e dell'annesso R. Osservatorio fitopatologico regionale, lasciando un vivo e profondo compianto di sè in quanti, e sono innumerevoli, Lo conobbero e ne poterono apprezzare le doti elevate di mente e di cuore.

La Fitopatologia italiana perde, col Prof. Voglino, uno dei suoi più appassionati cultori, uno dei più zelanti e tenaci propagandisti dell'applicazione pratica dei mezzi profilattici e curativi che sono oggi a disposizione degli agricoltori per la lotta contro i parassiti delle piante.

Per il fervore che Lo animò sino dagli anni giovanili per la micologia e la patologia vegetale, fervore che Egli sapeva infondere in quanti Lo avvicinavano, il Voglino acquistò rapidamente una riconosciuta competenza in tal campo di studi, e potè e seppe far sorgere in Torino, col concorso finanziario del Governo e degli Enti locali, il Laboratorio Sperimentale di Fitopatologia sin dal 1904 a cui in seguito il Ministero dell'Agricoltura annetteva il R. Osservatorio regionale di Fitopatologia, dando in tal modo una tangibile prova dell'alta fiducia che l'istituzione creata con modesti mezzi dal Voglino godeva presso le nostre Autorità governative. Questo organo di ricerca scientifica e di consulenza tecnica, mercè l'instancabile perseveranza e le assidue cure del suo Direttore, si arricchì continuamente di mezzi d'indagine, di materiale bibliografico e didattico, diventando un'Istitu-

zione di notevole importanza non solo locale, ma nazionale, tanto che alcuni anni fa il Laboratorio Sperimentale di Fitopatologia di Torino ebbe l'onore di esser visitato dal Ministro dell'Agricoltura che rivolse espressioni di sincera lode a Chi con tanta passione e fede aveva saputo creare un centro di studi così attivo ed utile per la nostra Agricoltura. Dimostra, ma solo in parte, tale attività il Bollettino che da 28 anni viene pubblicato regolarmente dal Laboratorio.

Uno dei meriti maggiori del VOGLINO, dal punto di vista delle applicazioni pratiche della Fitopatologia, è costituito dalla mirabile organizzazione che Egli aveva saputo dare al Servizio fitopatologico nel Piemonte, utilizzando le persone le più diverse per farne altrettante *vedette* sparse in ogni comune rurale e capaci d'informare l'Osservatorio della comparsa di parassiti e di malattie sulle piante coltivate. È per questa particolare organizzazione che il VOGLINO era in grado d'inviare ogni mese al Ministero una dettagliata relazione sulle condizioni fitosanitarie della regione in rapporto alle vicende meteoriche. Questo servizio di sorveglianza sopra le diverse colture e sopra i vivai costituisce un modello del genere ed è da augurarsi che esso possa rimanere in efficienza anche dopo la scomparsa di COLUI che seppe organizzarlo.

La esiguità dello spazio ci vieta di illustrare l'opera feconda e preziosa spesa dal VOGLINO per l'applicazione di svariate disposizioni ministeriali riguardanti sia l'analisi dei semi, sia il controllo sulle esportazioni ed importazioni di prodotti agrari. Encomiabile sotto ogni riguardo è stata l'opera svolta dall'Estinto per l'applicazione dei metodi di disinfestazione delle castagne da esportazione negli Stati Uniti d'America.

Nel campo dell'attività scientifica, il VOGLINO lascia legato il suo nome alla descrizione di numerose malattie di piante coltivate e a numerose specie fungine da LUI descritte o in collaborazione con altri micologi, per cui

nell'ambito degli studi fitopatologici e micologici il Suo nome è e resterà largamente noto. Benemerito dell'insegnamento, giacchè il VOGLINO per 40 anni insegnò Scienze Naturali nei RR. Licei, sin dal 1895 fu libero docente in Patologia Vegetale presso la R. Università di Torino, Egli si rese utilissimo anche alla Reale Accademia di Agricoltura di cui era Socio sino dal 1897 e Segretario poi e Conservatore delle collezioni, era Consigliere della Commissione Provinciale Granaria, Socio della Società Botanica Italiana, del Circolo Enofilo, della Società di Coltura e Propaganda Agraria.

Ovunque gl'interessi dell'Agricoltura locale lo richiedessero il VOGLINO era presente colla Sua solerzia, con la Sua fede di apostolo e con la Sua competenza di tecnico e di scienziato.

Di questa Sua preziosa ed instancabile operosità, troncata ora dall'inesorabile destino, dello spirito alacre che la diresse, conserveremo ed onoreremo per sempre la memoria.

Prof. LIONELLO PETRI, *Direttore responsabile*